



**Inês Catarina Batista Martins**

Licenciada em Química Aplicada – Perfil Química Orgânica

**Desenvolvimento de fármacos:  
melhoria do desempenho de princípios  
farmacologicamente ativos por síntese  
supramolecular**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Bioorgânica

Orientador: Maria Teresa Nogueira Leal da Silva Duarte,  
Professora Associada com Agregação, Instituto Superior  
Técnico

Co-orientador: Vânia Mafalda de Oliveira André,  
Investigadora Pós-Doutorada, Instituto Superior Técnico

Júri:

Presidente: Prof. Doutora Paula Cristina de Sério Branco

Arguente: Prof. Doutora Maria de Fátima Monteiro Martins Minas Piedade

Vogais: Prof. Doutora Maria Teresa Leal Duarte, Doutora Vânia Mafalda de  
Oliveira André



FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

**Junho de 2013**



## Direitos de cópia

Inês Catarina Batista Martins, *Copyright*

“A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.”



## **Agradecimentos**

Agradeço aos projectos PEst-OE/QUI/UI0100/2013 e PTDC/CTM-BPC/122447/2010 por disponibilizarem o financiamento para a bolsa de investigação científica.

Às pessoas que contribuíram para que a realização deste trabalho fosse possível, gostaria de prestar os mais sinceros agradecimentos.

À Professora Teresa Duarte, quero agradecer imenso a oportunidade, o privilégio em poder trabalhar num projeto tão interessante e todo o apoio, orientação e conselhos sobre assuntos relacionados com o trabalho e também pessoais. Gostaria de realçar a sua simpatia, boa disposição e “companheirismo” que permitiram a realização deste trabalho de forma bastante agradável.

À Doutora Vânia André, quero agradecer por toda a ajuda e ensinamentos em cristalografia de raios-X e também por toda a amizade, hospitalidade e conselhos que muito contribuíram para a minha aprendizagem.

Às minhas colegas Marta Martins e Sílvia Quaresma, quero agradecer a amizade, boa disposição, apoio e espírito de entreajuda.

Quero agradecer à Professora Fátima Piedade, pela simpatia, disponibilidade e elucidação sobre os conceitos fundamentais de resolução de estruturas por raios-X.

Ao Professor João Luís pela sua disponibilidade e simpatia.

Ao Doutor Auguste por ter realizado as análises de IV e CDV-ATG e por toda a disponibilidade e simpatia.

À Doutora Alexandra Antunes pela disponibilidade em realizar os estudos de RMN de solução e pela ajuda na compreensão dos resultados desses estudos.

Aos Doutores Luís Mafra, Sérgio Santos e Mariana Sardo, do CICEO da Universidade de Aveiro, pela realização dos estudos de RMN de estado sólido que complementaram os resultados obtidos por difração de raios-X

À Professora Teresa Nunes pela realização dos ensaios de RMN de estado sólido núcleo de azoto e carbono.

À Professora Ana Rego pelo interesse e concretização dos estudos dos compostos por espectroscopia de fotoeletrão de raios-X.

À Professora Matilde Marques por disponibilizar o equipamento de HPLC e à Shrika Harjivan e David Novais pela realização dos estudos de solubilidade.

Agradeço também aos meus amigos que muito me apoiaram, em especial à Ana Soraia que sempre me apoiou e acompanhou ao longo de seis anos de uma grande amizade, e ao Tiago por todo o apoio, amizade e longas conversas.

À minha avó Rosa quero agradecer do fundo do coração toda a ajuda e apoio que sempre me deu e por ser a melhor avó do mundo.

Aos meus pais, quero expressar a minha profunda gratidão por tudo o que têm feito por mim, pela educação, apoio incondicional e presença em todos os momentos da minha vida. Sem eles, não seria possível ter chegado até aqui.



## **Resumo**

Os problemas geralmente relacionados com a utilização direta de um princípio farmacologicamente ativo (PFA), enquanto fármaco por excelência, prendem-se essencialmente com a baixa (elevada) solubilidade e/ou biodisponibilidade, bem como a sua estabilidade, podendo consequentemente interferir com o seu desempenho farmacológico. Para a indústria farmacêutica, o desenvolvimento de novas formas de PFAs já conhecidos tem-se apresentado como uma estratégia promissora na melhoria destas propriedades, dado que não implicam a alteração da estrutura química do PFA, não alterando a sua bioactividade.

Desenvolveram-se, ao longo deste trabalho, novas formas cristalinas (co-cristais e sais moleculares anidros e hidratados) do ácido azelaico, dapsona e ácido nalidíxico, recorrendo a diferentes métodos de síntese: co-cristalização a partir de solução e mecanoquímica (moagem num almofariz e num moinho de bolas).

A caracterização estrutural das novas formas cristalinas sintetizadas foi efetuada recorrendo com maior incidência às técnicas de difração de raios-X de pós e monocristal. Adicionalmente recorreu-se a outras técnicas de caracterização como o RMN de solução, de estado sólido e IV. Para avaliar a estabilidade térmica dos compostos, utilizou-se a técnica acoplada de CDV-ATG e a técnica de termomicroscopia.

Foram efetuados estudos preliminares de solubilidade em água. Destes estudos resulta que, para as formas cristalinas do ácido azelaico (solubilidade de 1,30 g/L), a solubilidade é melhorada (1,25 g/L para o co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina, 2,86 g/L para o sal molecular anidro ácido azelaico:morfolina e 20,0 g/L para o sal molecular ácido azelaico:piperazina), enquanto para o ácido nalidíxico (solubilidade < 0,1 g/L) se verifica uma melhoria parcial (0,83 g/L para o sal molecular ácido nalidíxico:morfolina). Relativamente às formas cristalinas da dapsona, não foi possível melhorar a solubilidade do PFA, verificando-se uma solubilidade para os co-cristais dapsona:ε-caprolactama e dapsona:4,4'-bipiridina inferior a 0,42 g/L.

**Palavras chave:** Engenharia de cristais, co-cristais, química supramolecular, ácido azelaico, ácido nalidíxico, dapsona





## **Abstract**

The problems generally related to the direct use of an active pharmaceutical ingredient (API), as a drug par excellence, derive mainly from their low/high solubility and/or bioavailability as well as their stability, which hence may interfere with their pharmacological performance. For the pharmaceutical industry, development of new forms of APIs has been used as a promising strategy for improving these properties, since it does not involve changing the chemical structure of the API and intrinsically maintains its bioactivity.

During this work several new crystalline forms (co-crystals, molecular anhydrous and hydrated salts) of azelaic acid, dapsone and nalidixic acid, were obtained, using different synthetic methodologies such as co-crystallization from solution and using mechanochemistry (grinding in a mortar and in a ball mill). The structural characterization of these new crystal forms was performed recurring with major emphasis to powder and single crystal X-ray diffraction. For most crystalline forms several other characterization techniques were applied such as solution NMR, solid state NMR and IR. To assess the thermal stability of the compounds, it was used the coupled technique CDV-ATG and hot-stage microscopy.

Preliminary water solubility studies were performed. Results from these studies demonstrate that for the crystalline forms of azelaic acid (solubility = 1.30 g/L), the solubility is clearly improved (1.25 g/L for the co-crystal azelaic acid:4,4'-bipyridine, 2.86 g/L for the anhydrous molecular salt azelaic acid:morpholine and 20.0 g/L for the anhydrous molecular salt azelaic acid:piperazine), while for nalidixic acid (solubility < 0.1 g/L) there is a partial improvement (0.83 g/L for the molecular salt hydrate nalidixic acid:morpholine). It was not possible to improve the solubility of dapsone through the new crystalline forms synthesized once the solubility of co-crystals dapsone:ε-caprolactam and dapsone:4,4'-bipyridine is lower than 0.42 g/L.

**Keywords:** Crystal engineering, co-crystals, supramolecular chemistry, azelaic acid, nalidixic acid, dapsone



## Índice de matérias

Agradecimentos.....	v
Resumo .....	vii
Abstract .....	ix
Índice de Figuras .....	xiii
Índice de Tabelas .....	xvii
Lista de Abreviaturas.....	xix
1. Capítulo 1. Introdução.....	1
1.1 Engenharia de cristais e química supramolecular .....	3
1.1.1 Interações supramoleculares .....	4
1.2 Princípios Farmacologicamente Ativos (PFAs) .....	8
1.2.1 Polimorfismo e importância na indústria farmacêutica.....	9
1.2.2 Anidros, hidratos, solvatos e sua aplicação na indústria farmacêutica.....	11
1.2.3 Sais e co-cristais farmacêuticos .....	12
1.3 Métodos de síntese: solução e mecanoquímica .....	16
1.4 Cristalografia de raios-X.....	18
1.4.1 Fundamentos da cristalografia de raios-X.....	18
1.4.2 Estado cristalino: conceitos fundamentais .....	19
1.4.3 Difração de raios-X em mono cristal (DRXMC) .....	21
1.4.4 Difração de raios-X em pó (DRXP) .....	21
1.5 Outras técnicas de caracterização das formas sólidas cristalinas.....	23
2. Capítulo 2. Novas formas cristalinas do ácido azelaico – Caracterização estrutural e estudos de estabilidade térmica e solubilidade .....	25
2.1 Introdução.....	27
2.2 Parte experimental .....	29
2.2.1 Síntese .....	29
2.2.2 Estudos de estabilidade .....	33
2.2.3 Detalhes de caracterização.....	33
2.3 Apresentação e discussão de resultados .....	37
2.3.1 Caracterização estrutural .....	37
2.3.2 Caracterização térmica .....	56
2.3.3 Estudos preliminares de solubilidade.....	60
3. Capítulo 3. Síntese e caracterização de novos co-cristais da dapsona.....	63
3.1 Introdução.....	65
3.2 Parte experimental .....	68
3.2.1 Síntese .....	68
3.2.2 Detalhes de caracterização.....	70
3.3 Apresentação e discussão de resultados .....	72
3.3.1 Caracterização estrutural .....	72
3.3.2 Caracterização térmica e estudos de solubilidade .....	78
3.3.3 Relação estrutura - propriedade.....	81
4. Capítulo 4. Ácido nalidíxico – Rastreo da reatividade molecular .....	69

4.1	Introdução.....	85
4.2	Parte Experimental .....	87
4.2.1	Síntese .....	87
4.2.2	Detalhes de caracterização .....	90
4.3	Apresentação e discussão de resultados .....	91
4.3.1	Caraterização estrutural do sal molecular hidratado nalidíxico:morfolina.....	92
4.3.2	Caraterização térmica do sal molecular hidratado nalidíxico:morfolina por CDV-ATG.....	95
4.3.3	Estudo preliminar de solubilidade do sal molecular hidratado nalidíxico:morfolina	96
5.	Conclusões e Perspetivas futuras .....	99
6.	Referências bibliográficas .....	103

## Índice de Figuras

Figura 1.1 Representação esquemática da complementaridade molecular que leva à formação de um cristal a partir de arranjos periódicos de “supermoléculas”. <sup>5</sup> (adaptação).....	4
Figura 1.2 Representação da interação intermolecular entre o hidrogénio proveniente do grupo carboxílico e o oxigénio da cetona $\alpha,\beta$ -insaturada do ácido nalidixico.....	5
Figura 1.3 Exemplos da aplicação da teoria de grafos. <sup>15</sup> .....	6
Figura 1.4 Exemplos de sintões supramoleculares: <i>a</i> e <i>b</i> – homosintões entre ácidos carboxílicos e amidas; <i>c</i> – heterosintão entre um ácido carboxílico e uma amida.....	7
Figura 1.5 Probabilidade de formação de homosintões e heterosintões supramoleculares na CSD. <sup>5</sup> .....	8
Figura 1.6 Exemplo representativo do polimorfismo: <i>a</i> e <i>b</i> consistem em diferentes arranjos estruturais demonstrados pelas diferentes formas da célula unitária (representado a preto). <sup>3</sup> ..	10
Figura 1.7 Representação da estrutura química dos fármacos: <i>a</i> – aspirina; <i>b</i> – paracetamol; <i>c</i> – piracetam e <i>d</i> – virazole. ....	11
Figura 1.8 Classificação dos diferentes hidratos: <i>a</i> - hidrato estequiométrico com redes regulares formadas por pontes de hidrogénio; <i>b</i> - hidrato não-estequiométrico com moléculas de água dentro das cavidades. <sup>46</sup> .....	12
Figura 1.9 Representação da estrutura química do mesilato de delavirdina.....	13
Figura 1.10 Representação da estrutura química da ampicilina.....	13
Figura 1.11 Representação do empacotamento cristalino da indometacina com a sacarina. ...	14
Figura 1.12 Representação do empacotamento cristalino da carbamazepina com a sacarina. ....	15
Figura 1.13 Co-cristal sildenafil:ácido acetilsalicílico. ....	15
Figura 1.14 Representação esquemática da diferença entre cristalização (forças intermoleculares homoméricas) e co-cristalização (forças intermoleculares heteroméricas). <sup>54</sup> ..	16
Figura 1.15 Condições para a difração de Bragg num conjunto de planos espaçados por uma distância <i>d</i> . <sup>32</sup> .....	19
Figura 1.16 Representação da célula unitária tridimensional. <sup>32</sup> .....	19
Figura 1.17 Representação das sete células unitárias primitivas: <i>a</i> - átomos ou moléculas presentes apenas nos vértices de cada célula; <i>b</i> - variações nas células primitivas, com os átomos ou moléculas a ocuparem posições centrais na célula. <sup>85</sup> .....	20
Figura 1.18 <i>a</i> - processo de difração de raios-X em mono cristal; <sup>92</sup> <i>b</i> - padrão de difração do diamante. <sup>90</sup> .....	21
Figura 1.19 Processo de difração de raios-X em pó e obtenção de um difratograma de pós. ...	22
Figura 2.1 Estrutura química do ácido azelaico. ....	27
Figura 2.2 Representação dos sintões mais comuns de se formarem para o ácido azelaico. ...	28
Figura 2.3 Lista de compostos utilizados para a síntese de novas formas cristalinas com o ácido azelaico: A verde – co-cristalizantes que não reagiram; a azul co-cristalizantes que reagiram. ....	29
Figura 2.4 Representação dos produtos finais obtidos e respetivas estequiometrias, a partir da reação do ácido azelaico com os co-cristalizantes 4,4'-bipiridina, piperazina, morfolina e DABCO.....	30
Figura 2.5 Representação pictórica da quebra do homosintão <b>R22(8)</b> com formação do co-cristal cuja unidade assimétrica é composta por uma molécula de 4,4'-bipiridina e uma molécula de ácido azelaico. ....	37
Figura 2.6 Diagramas de empacotamento para o co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina: <i>a</i> – vista segundo <i>a</i> evidenciando a cadeia em zig-zag composta alternadamente por moléculas de ácido azelaico e 4,4'-bipiridina; <i>b</i> – vista segundo <i>b</i> evidenciando as interações O-H <sub>COOH</sub> ...N estabelecidas entre as duas moléculas, bem como o empacotamento da estrutura onde se observam cadeias em zig-zag independentes.....	38
Figura 2.7 Difratogramas experimentais de DRXP para o co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina obtidos a partir de: A – solução; B - moagem assistida por solvente num almofariz; C - moagem assistida por solvente num moinho de bolas; sobrepostos com D - difratograma teoricamente obtido a partir do monocristal. ....	38
Figura 2.8 Espetro de IV do co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina, com respetiva atribuição das bandas típicas dos grupos funcionais presentes em cada molécula. ....	39
Figura 2.9 Empacotamento cristalino do sal molecular anidro azelaico:piperazina com evidência das principais interações estabelecidas: <i>a</i> – linha ao longo de <i>b</i> ; <i>b</i> – Canais formados por	

moléculas de ácido azelaico e piperazina, dispostos de forma alternada, ao longo de <i>b</i> . Destaque para o canal formado por moléculas de piperazina.....	40
Figura 2.10 Difratomogramas experimentais de DRXP para o sal molecular anidro azelaico:piperazina obtidos a partir de: A - co-cristalização em solução; B - moagem assistida por solvente num almofariz; C - moagem assistida por solvente num moinho de bolas; sobrepostos com D - difratograma teoricamente obtido a partir do monocristal. ....	40
Figura 2.11 Espetro de IV do sal molecular anidro azelaico:piperazina, com a respetiva atribuição das bandas típicas dos grupos funcionais presentes em cada molécula. ....	41
Figura 2.12 Composição da unidade assimétrica: duas moléculas de ácido azelaico desprotonadas, uma molécula de piperazina protonada e duas moléculas de água.....	41
Figura 2.13 Representação do empacotamento do sal molecular hidratado, segundo <i>a</i> , com evidência para o canal composto por moléculas de água e piperazina, e destaque para as interações existentes que levam à formação dos sintões <b>R43</b> (13) e <b>R64</b> (12).....	42
Figura 2.14 Representação das várias etapas de conversão da forma hidratada (cristais em forma de placa) na forma anidra (cristais em forma de agulha): <i>a</i> – evidência de cristais em forma de placa e agulha; <i>b</i> – detalhes da presença de placas (várias cores) e agulhas (preto) ao microscópio na presença de luz polarizada; <i>c</i> – aspeto dos cristais após 5 minutos; <i>d</i> – aspeto dos cristais após 15 minutos, com clara evidência da formação de agulhas; <i>e</i> – aspeto dos cristais após 20 minutos, com o processo de conversão quase finalizado; <i>f</i> – evidência de várias agulhas (a preto) e de poucas placas (várias cores). ....	43
Figura 2.15 Difratomogramas experimentais de DRXP para o sal molecular azelaico:piperazina obtido a partir de: A - moagem assistida por solvente (água) num almofariz; B – solução; C - solução, após a amostra permanecer, sob condições atmosféricas durante um dia; sobrepostos com os difratogramas teoricamente obtidos a partir do monocristal de D - sal molecular anidro e E - hidratado. ....	43
Figura 2.16 Composição da unidade assimétrica: duas moléculas de ácido azelaico deprotonadas e duas moléculas de morfolina protonadas. ....	44
Figura 2.17 Representação do empacotamento, segundo <i>a</i> , do sal molecular azelaico:morfolina com evidência do sintão formado, <b>R66</b> (36), como resultado das interações estabelecidas entre as duas espécies.....	45
Figura 2.18 Difratomogramas experimentais de DRXP para: A - ácido azelaico; B - sal molecular azelaico:morfolina obtido a partir da co-cristalização em solução; C - moagem assistida por solvente num almofariz; D - moagem assistida por solvente num moinho de bolas; sobrepostos com E - difratograma teoricamente obtido a partir do monocristal. ....	45
Figura 2.19 Espetro de IV do sal molecular anidro azelaico:morfolina, com a respetiva atribuição das bandas típicas dos grupos funcionais presentes em cada molécula. ....	46
Figura 2.20 Composição da unidade assimétrica: duas moléculas de ácido azelaico e uma molécula de DABCO. ....	46
Figura 2.21 Representação do empacotamento do sal molecular anidro ácido azelaico:DABCO, segundo <i>b</i> , com evidência das interações estabelecidas entre as duas moléculas.....	47
Figura 2.22 Difratomogramas experimentais de DRXP para o sal molecular ácido azelaico:DABCO obtido a partir de: A - co-cristalização em solução; B - moagem assistida por solvente num almofariz; C - moagem assistida por solvente num moinho de bolas; sobrepostos com os difratogramas teoricamente obtidos a partir do monocristal para D - sal molecular e E - co-cristal. ....	48
Figura 2.23 Difratomogramas experimentais de DRXP para o sal molecular ácido azelaico:DABCO obtido a partir de: A - solução; B - moagem assistida por solvente num moinho de bolas; C - suspensão em agitação; sobrepostos com os difratogramas teoricamente obtidos a partir do monocristal para D - sal molecular e E - co-cristal.....	48
Figura 2.24 Espetro de IV do sal molecular ácido azelaico:DABCO, com a respetiva atribuição das bandas típicas dos grupos funcionais presentes em cada molécula. ....	49
Figura 2.25 Comparação dos espectros de <sup>1</sup> H RMN, adquiridos em D <sub>2</sub> O: A - ácido azelaico; B - sal molecular ácido azelaico:piperazina; C - hidrocloreto de piperazínio; D - piperazina.....	52
Figura 2.26 Espetro 1D <sup>1</sup> H DUMBO MAS NMR de (a) ácido azelaico:4,4'-bipiridina, (b) azelaico:piperazina e (c) azelaico:morfolina.....	54
Figura 2.27 Espetro 1D <sup>13</sup> C CPMAS NMR de (a) ácido azelaico:4,4'-bipiridina, (b) ácido azelaico:piperazina e (c) ácido azelaico:morfolina.....	55
Figura 2.28 Espetro 1D <sup>15</sup> N CPMAS NMR de (a) ácido azelaico:4,4'-bipiridina, (b) azelaico:piperazina e (c) azelaico:morfolina. ....	56

Figura 2.29 CDV e ATG do co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina em que se observa o ponto de fusão a 144,6 °C.....	56
Figura 2.30 Microscopia de placa quente para o co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina a a - 21 °C; b - 141,1 °C – começo do processo de fusão e c - 145,0 °C – fusão. ....	57
Figura 2.31 CDV e ATG do sal molecular anidro ácido azelaico:piperazina em que se observa o ponto de fusão a 144,1 °C.....	57
Figura 2.32 Microscopia de placa quente para o sal molecular anidro ácido azelaico:piperazina a a - 28,5 °C; b - 141,3 °C – começo do processo de fusão e c - 144,8 °C – fusão.....	57
Figura 2.33 Microscopia de placa quente para o sal molecular hidratado ácido azelaico:piperazina a a - 23,7 °C; b - 81,3 °C – começo do processo de fusão; c - 81,7 °C – fusão. ....	58
Figura 2.34 CDV e ATG do sal molecular anidro ácido azelaico:morfolina em que se observa o ponto de fusão a 85,6 °C.....	59
Figura 2.35 Microscopia de placa quente para o sal molecular anidro ácido azelaico:morfolina a a - 21 °C; b - 82,4 °C – começo do processo de fusão e c - 85,6 °C – fusão. ....	59
Figura 2.36 CDV e ATG do sal molecular anidro ácido azelaico:DABCO em que se observa o ponto de fusão a 89,9 °C.....	60
Figura 2.37 Microscopia de placa quente para o sal molecular anidro ácido azelaico:DABCO a a - 21,6 °C; b - 87,7 °C – começo do processo de fusão e c - 90,9 °C – fusão completa. ....	60
Figura 2.38 Estudos preliminares de solubilidade em água para o ácido azelaico e formas cristalinas (co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina e sais moleculares anidros azelaico:piperazina e azelaico:morfolina). ....	61
Figura 3.1 Estrutura química da dapsona. ....	65
Figura 3.2 Empacotamento cristalino da dapsona com evidência da cavidade formada pelo sintão <b>R33(24)</b> .....	66
Figura 3.3 Empacotamento cristalino da dapsona solvatada com diclorometano com evidência da cavidade formada pelo sintão <b>R44(32)</b> . ....	67
Figura 3.4 Representação dos sintões mais comuns de se formarem para a dapsona.....	67
Figura 3.5 Lista de compostos utilizados para a síntese de novas formas cristalinas com dapsona: A verde – co-cristalizantes que não reagiram; a azul co-cristalizantes que reagiram.	68
Figura 3.6 Representação dos produtos finais obtidos e respectivas estequiometrias, a partir da reação da dapsona com os co-cristalizantes $\epsilon$ -caprolactama e 4,4'-bipiridina. ....	69
Figura 3.7 Representação da unidade assimétrica: uma molécula de dapsona e uma molécula de $\epsilon$ -caprolactama. ....	72
Figura 3.8 Representação do empacotamento cristalino do co-cristal dapsona: $\epsilon$ -caprolactama. Visualização segundo a evidência a formação do sintão <b>R22(8)</b> estabelecido entre as moléculas de $\epsilon$ -caprolactama e o crescimento da cadeia C9, formada por moléculas de dapsona. ....	73
Figura 3.9 Representação do empacotamento cristalino do co-cristal dapsona: $\epsilon$ -caprolactama: a - evidência para a conexão das cadeias C9 de dapsona medeadas pela interação C-H... $\pi$ estabelecida entre as moléculas de dapsona; b – detalhe da interação C-H... $\pi$ estabelecida entre as moléculas de $\epsilon$ -caprolactama e dapsona. ....	73
Figura 3.10 Difrátogramas experimentais de DRXP para o co-cristal dapsona: $\epsilon$ -caprolactama obtidos a partir de: A - solução; B - moagem assistida por solvente num moinho de bolas; sobrepostos com C - difratograma teoricamente obtido. ....	74
Figura 3.11 Espetro de IV do co-cristal dapsona: $\epsilon$ -caprolactama, com a respetiva atribuição das bandas típicas dos grupos funcionais presentes em cada molécula. ....	74
Figura 3.12 Representação da unidade assimétrica: uma molécula de dapsona e meia molécula de 4,4'-bipiridina.....	75
Figura 3.13 Representação do empacotamento cristalino do co-cristal dapsona:4,4'-bipiridina: a – evidência das interações estabelecidas entre as moléculas de dapsona, levando à formação de cavidades delimitadas pelos sintões <b>R32(22)</b> e <b>R3324</b> ; b – visualização segundo a com evidência para a formação de canais de moléculas 4,4'-bipiridina que interatuam com as cavidades formadas pelas moléculas de dapsona. ....	76
Figura 3.14 Difrátogramas experimentais de DRXP para: A - dapsona; B - 4,4'-bipiridina; co-cristal dapsona:4,4'-bipiridina obtido a partir de C - solução; D - moagem assistida por solvente num moinho de bolas; sobrepostos com E - difratograma teoricamente obtido.....	76
Figura 3.15 Espetro de IV do co-cristal dapsona:4,4'-bipiridina, com a respetiva atribuição das bandas típicas dos grupos funcionais presentes em cada molécula. ....	77

Figura 3.16 Diagramas moleculares dos co-cristais dapsona: $\epsilon$ -caprolactama <i>a</i> e dapsona:4,4'-bipiridina <i>b</i> com atribuição atômica. Os elipsóides foram desenhados com 50% de probabilidade. ....	78
Figura 3.17 Difrátogramas experimentais de DRXP para o co-cristal dapsona: $\epsilon$ -caprolactama a diferentes temperaturas: A - 30°C; B - 110°C; C - 80°C; D - 30°C após aquecimento; E - dapsona na forma pura. ....	79
Figura 3.18 CDV-ATG do co-cristal dapsona: $\epsilon$ -caprolactama com destaque para o pico correspondente à transição de fase a 106,6°C. As imagens de microscopia de placa quente foram recolhidas a diferentes temperaturas: <i>a</i> - 25,3°C; <i>b</i> - 106,6°C; <i>c</i> - 179,1°C – começo do processo de fusão e <i>d</i> - 182,3°C - fusão. ....	79
Figura 3.19 Difrátogramas experimentais de DRXP para o co-cristal dapsona:4,4'-bipiridina a diferentes temperaturas: A - 30°C; B - 120°C; C - 145°C; D - 30°C após aquecimento; E - dapsona na forma pura. ....	80
Figura 3.20 CDV-ATG do co-cristal dapsona:4,4'-bipiridina com destaque para o pico correspondente à transição de fase a 144,2°C. As imagens de microscopia de placa quente foram recolhidas a diferentes temperaturas: <i>a</i> - 26,5°C; <i>b</i> - 144,2°C; <i>c</i> - 171,3°C – começo do processo de fusão e <i>d</i> - 173,5°C - fusão. ....	80
Figura 4.1 Estrutura química do ácido nalidíxico. ....	85
Figura 4.2 Representação dos sintões mais comuns de se formarem para o ácido nalidíxico. ....	86
Figura 4.3 Lista de compostos utilizados para a síntese de novas formas cristalinas com o ácido nalidíxico. A verde – co-cristalizantes que não reagiram; a azul co-cristalizantes que reagiram. ....	87
Figura 4.4 Representação do produto final obtido e respetiva estequiometria da reação da dapsona com o co-cristalizante morfolina. ....	88
Figura 4.5 Composição da unidade assimétrica: uma molécula de ácido nalidíxico, uma molécula de morfolina e duas moléculas de água. ....	92
Figura 4.6 Empacotamento cristalino do sal molecular hidratado ácido nalidíxico:morfolina, segundo <i>b</i> , com destaque para as interações existentes que permitem a formação dos sintões <i>R</i> 54(10), <i>R</i> 12(6) e <i>R</i> 42(8). ....	93
Figura 4.7 Difrátogramas experimentais de DRXP para: A - ácido nalidíxico; sal molecular hidratado ácido nalidíxico:morfolina obtidos a partir de B – solução; C - moagem assistida por solvente num moinho de bolas; sobrepostos com D - difratograma teoricamente obtido. ....	94
Figura 4.8 Espetro de IV do sal molecular hidratado ácido nalidíxico:morfolina, com a respetiva atribuição das bandas típicas dos grupos funcionais presentes em cada molécula. ....	94
Figura 4.9 Difrátogramas experimentais de DRXP para: A - ácido nalidíxico; B – piperazina; C – solução; D - recristalização e E - moagem assistida por solvente num moinho de bolas. ....	95
Figura 4.10 CDV e ATG do sal molecular dihidratado ácido nalidíxico:morfolina em que se observa o ponto de fusão a 228,3 °C. ....	96
Figura 4.11 Representação da solubilidade do ácido nalidíxico e respetivo sal molecular hidratado em 12 mL de água. ....	97



## Índice de Tabelas

Tabela 2.1 Condições experimentais aplicadas ao ácido azelaico e co-cristalizantes testados.	30
Tabela 2.2 Detalhes cristalográficos dos compostos: co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina e sais moleculares anidro e hidratado azelaico:piperazina.	34
Tabela 2.3 Detalhes cristalográficos dos compostos: sais moleculares anidros ácido azelaico:morfolina e ácido azelaico:DABCO.	35
Tabela 2.4 Distâncias das ligações de hidrogénio e ângulos para as novas formas cristalinas.	50
Tabela 2.5 Comparação dos valores dos desvios químicos de $^{13}\text{C}$ RMN obtidos para o ácido azelaico e piperazina com os valores obtidos para os sais hidrocloreto de piperazínio e ácido azelaico:piperazina. <sup>1</sup>	51
Tabela 2.6 Comparação dos valores dos desvios químicos de $^{13}\text{C}$ RMN obtidos para o ácido azelaico e morfolina com os valores obtidos para o sal molecular ácido azelaico:morfolina. <sup>1</sup>	53
Tabela 3.1 Condições experimentais aplicadas à dapsona e co-cristalizantes testados.	69
Tabela 3.2 Detalhes cristalográficos dos compostos: co-cristal dapsona – $\epsilon$ -caprolactama e co-cristal dapsona – 4,4'-bipiridina.	71
Tabela 3.3 Distâncias das ligações de hidrogénio e ângulos para os novos co-cristais.	77
Tabela 3.4 Ângulos de torção da dapsona e novos co-cristais sintetizados.	78
Tabela 4.1 Condições experimentais aplicadas nos processos sintéticos que não ocorreram com sucesso.	88
Tabela 4.2 Detalhes cristalográficos para o composto sal molecular nalidíxico:morfolina.	91
Tabela 4.3 Distâncias das ligações de hidrogénio e ângulos para o sal molecular hidratado ácido nalidíxico:mofolina.	93



## Lista de Abreviaturas

PFA	Princípio Farmacologicamente Ativo
CSD	Cambridge Structural Database
FDA	Food and Drug Administration
DRX	Difração de raios-X
DRXMC	Difração de raios-X em monocristal
DRXP	Difração de raios-X em pós
$a, b, c$	Comprimentos axiais da célula unitária
$\alpha, \beta$ e $\gamma$	Ângulos interaxiais entre $b$ e $c$ , $a$ e $c$ e $a$ e $b$ , respectivamente
$\theta$	Ângulo complementar ao ângulo de incidência
$2\theta$	Desvio do feixe difratado em relação ao feixe de raios-X
$\lambda$	Comprimento de onda
RMN	Ressonância magnética nuclear
$^{13}\text{C}$ -RMN	Ressonância magnética nuclear núcleo de carbono
$^1\text{H}$ -RMN	Ressonância magnética nuclear núcleo de próton
$^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ P-HETCOR	<i>Cross polarization – Heteronuclear correlation spectroscopy of proton</i>
$^{13}\text{C}$ CPMAS	<i>Cross polarization magic angle spinning of carbon atom</i>
$^1\text{H}$ DUMBO MAS	<i>Homonuclear decoupling sequences, magic angle spinning</i>
$^{15}\text{N}$ CPMAS	<i>Cross polarization magic angle spinning of nitrogen atom</i>
IV	Infravermelho
CDV	Calorimetria diferencial de varrimento
ATG	Análise Termogravimétrica
DABCO	1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
HMBC	<i>Homonuclear Correlation Spectroscopy</i>
COSY	<i>Homonuclear Correlation Spectroscopy</i>

HMBC	<i>Heteronuclear multiple bond correlation</i>
DOSY	<i>Diffusion Ordered Spectroscopy</i>
CDCl <sub>3</sub>	Clorofórmio deuterado
D <sub>2</sub> O	Água deuterada
Cu Kα	Energia de transição alfa a partir de uma fonte de cobre
Planos de escorregamento	Combinação das operações de simetria rotação e translação

## **Capítulo 1. Introdução**



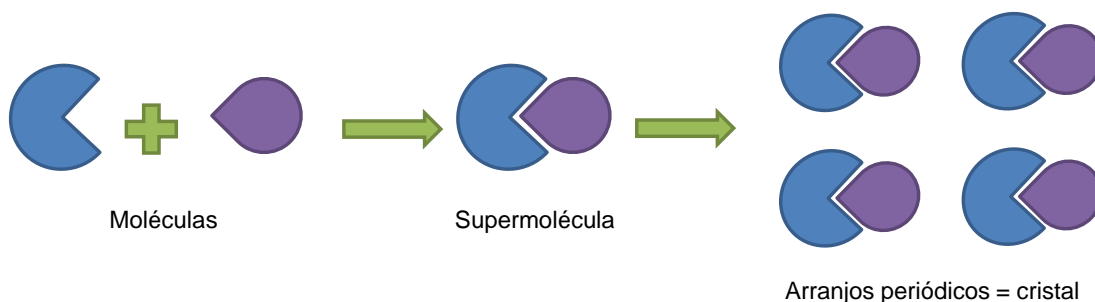
## 1.1 Engenharia de cristais e química supramolecular

A engenharia de cristais é um ramo científico relacionado com o desenho de estruturas cristalinas, baseada em interações intermoleculares, de espécies orgânicas e organo-metálicas, e terá surgido com o aparecimento da cristalografia de raios-X, quando Bragg constatou semelhanças entre as estruturas cristalinas do naftaleno e antraceno.<sup>1</sup> Não obstante o termo “engenharia de cristais” ter sido introduzido por Pepinsky em 1955, as ideias iniciais deste conceito terão surgido em 1930 quando Pauling definiu a ligação química em termos de interações covalentes e não-covalentes.<sup>1-3</sup> A implementação prática do conceito só terá sido realizada na década de 60, por Schmidt, no contexto das reações de fotodimerização em estado sólido do ácido *trans*-cinâmico, sendo atualmente uma importante área de investigação em Química.<sup>3</sup>

A engenharia de cristais evoluiu a partir do desenho de estruturas até à conceção de propriedades tendo sido definida por Desiraju, em 1989, como a “compreensão das interações supramoleculares no contexto do empacotamento cristalino e a utilização de tais interações na síntese de novas formas sólidas com as propriedades físicas e químicas desejadas”.<sup>1, 4, 5</sup> Em termos práticos, esta definição resulta da combinação do estudo de interações intermoleculares, com a aplicação dessas interações na síntese de cristais e caracterização estrutural, e sua correlação com as propriedades dos materiais cristalinos.<sup>4, 5</sup>

O prémio nobel atribuído em 1987 a Charles J. Pedersen, Donald J. Cram e Jean M. Lehn marcou o aparecimento de um novo ramo da química, denominada química supramolecular.<sup>4, 5</sup> Designada por Lehn como “química além da molécula”, isto é, a química de agregados moleculares que estabelecem entre si interações não-covalentes,<sup>5</sup> este ramo científico tornou-se de extrema importância devido à sua interdisciplinaridade<sup>6, 7</sup> e capacidade de combinar processos físicos e biológicos<sup>5</sup>, sendo diretamente associado ao reconhecimento molecular<sup>8</sup>. Para além disso, encontra-se amplamente relacionado com a engenharia de cristais, nomeadamente no que diz respeito à síntese de formas sólidas (estado sólido).

A importância das interações supramoleculares relativamente às reações químicas que acarretam quebra e formação de ligações covalentes, possibilitou a criação de uma nova classe de estruturas supramoleculares, denominadas “supermoléculas”,<sup>3, 5</sup> de elevada complexidade com vantagens sob o ponto de vista químico e também biológico. O arranjo periódico destas estruturas supramoleculares constitui um cristal (Figura 1.1).<sup>5</sup>



**Figura 1.1** Representação esquemática da complementaridade molecular que leva à formação de um cristal a partir de arranjos periódicos de “supermoléculas”.<sup>5</sup> (adaptação)

O interesse gradual na compreensão da organização estrutural no estado sólido e as etapas inerentes à formação de cristais terá permitido que nas últimas décadas os conceitos “engenharia de cristais” e “química supramolecular” tenham sido largamente aplicados e explorados em diversos domínios científicos como a química (orgânica, organometálica, inorgânica), física, cristalografia, biologia, ciência dos materiais, engenharia e ciências farmacêuticas.<sup>2, 5-8</sup>

### 1.1.1 Interações supramoleculares

Para compreender a organização molecular que leva à formação de estruturas cristalinas, é necessário compreender o tipo de interações que podem estar envolvidas. Normalmente, o interesse recai maioritariamente na análise de estruturas de agregados moleculares estáveis em que, por definição, a soma de todas as energias das interações intermoleculares é atrativa. Com estes agregados, pode ser racionalizada a estabilidade energética e estrutural pela observação das principais interações intermoleculares bem como as propriedades inerentes a essas interações. A geometria ótima de cada agregado resulta de um compromisso de todas as interações atrativas. Contudo, as interações repulsivas permitem o equilíbrio estrutural na medida em que evitam o seu colapso, isto é, se apenas existissem forças de atração ou de repulsão, os átomos chocariam entre si ou então não haveria formação de ligações (pontes de hidrogénio ou até mesmo ligações covalentes).<sup>9</sup>

As interações intermoleculares podem ser classificadas, num cristal molecular, segundo o termo dominante de cada energia interacional. Assim, existem interações eletrostáticas (também designadas por interações iónicas ou Coulombicas), interações de dispersão (também denominadas por interações de van der Waals) e interações por pontes de hidrogénio. Estas categorias não são restritas para um determinado agregado molecular, uma vez que podem existir várias combinações deste tipo de interações.<sup>9</sup>

As pontes de hidrogénio, também denominadas por “interações não-ligantes” são interações atrativas entre um átomo de hidrogénio de um fragmento A – H, em que A é mais eletronegativo que H, e um átomo ou grupo de átomos na mesma molécula ou numa molécula diferente em que existe evidência de interações intra ou intermoleculares. Este tipo de



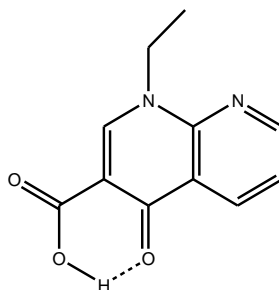
interações pode ser descrito pictoricamente por  $A - H \cdots B - C$ , em que A é o doador de hidrogénio e B o aceitador. Em certos casos, o doador e aceitador podem ser o mesmo.<sup>9-11</sup>

As ligações por pontes de hidrogénio podem ser subdivididas de acordo com a sua força. Jeffrey propôs uma divisão em três subgrupos: ligações fortes, moderadas (também denominadas por normais) e fracas. Esta subdivisão tem como referência a classe normal que é constituída por todas as pontes de hidrogénio semelhantes à que se formam na água e cuja energia de interação se situa entre os -4 e os -14 kcal.mol<sup>-1</sup>. As pontes de hidrogénio classificadas como fortes possuem uma energia de ligação superior a -14 kcal.mol<sup>-1</sup>, enquanto as pontes de hidrogénio classificadas como fracas têm uma energia de ligação inferior a -4 kcal.mol<sup>-1</sup>.<sup>9</sup> Contudo, esta subdivisão poderá suscitar algumas dúvidas quanto à sua aplicabilidade global, uma vez que muitas ligações por pontes de hidrogénio consideradas fortes apenas são encontradas quando uma das duas moléculas que interatua possui carga.

A geometria de ligação  $A - H \cdots B$  geralmente é linear. Quanto mais próximo de 180° for o ângulo, mais forte é a ligação de hidrogénio e mais curta a distância  $H \cdots B$ . Adicionalmente, quanto maior for o comprimento de ligação  $A - H$ , mais curta e, por conseguinte, mais forte é a ligação  $H \cdots B$ .<sup>11-13</sup>

Algumas das características das ligações de hidrogénio centralizam-se na diferença entre os valores de pKa das entidades envolvidas na ligação (que estão correlacionadas com a energia da ligação), na possibilidade da ocorrência de reações de transferência protónica e na existência de direções preferenciais de ligação (que podem influenciar os modos de empacotamento de uma estrutura cristalina).<sup>3, 11</sup>

Margaret Etter propôs um conjunto de regras para o estabelecimento de ligações por pontes de hidrogénio em estruturas orgânicas cristalinas. Estas regras compreendem a presença de bons grupos doadores e aceitadores, a formação preferencial de ligações intramoleculares em detrimento das ligações intermoleculares (especialmente quando estão envolvidos anéis de seis membros) (Figura 1.2) e a formação de ligações intermoleculares após formação de interações intramoleculares.<sup>14</sup>



**Figura 1.2** Representação da interação intermolecular entre o hidrogénio proveniente do grupo carboxílico e o oxigénio da cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada do ácido nalidíxico.

#### 1.1.1.1 Teoria de Grafos

Uma vez discutida a ocorrência de interações supramoleculares, nomeadamente pontes de hidrogénio, e a sua importância no contexto da engenharia de cristais, torna-se relevante desenvolver um sistema de nomenclatura que permita descrever o modo como as ligações por ponte de hidrogénio estão estabelecidas numa estrutura cristalina. Este sistema de nomenclatura, utilizado no estudo de cristais como entidades supramoleculares no estado sólido, é baseado na teoria de grafos.<sup>15</sup>

A teoria de grafos é um ramo da matemática que estuda a forma como os objetos estão ligados e as consequências dessa ligação. Em química, os grafos podem ser utilizados para representar uma variedade de estruturas químicas como moléculas, cristais e polímeros, em que as ligações covalentes são representadas por “linhas” e os átomos por “pontos”.<sup>15-17</sup>

Margaret Etter, pioneira na aplicação desta teoria, classificou as ligações de hidrogénio utilizando a notação de representação geral  $G_d^a(n)$  em que  $G$  é um padrão de designação ( $G=C$  para cadeias,  $S$  (do inglês, *Self*) para ligações de hidrogénio intramoleculares,  $D$  (do inglês, *Discrete*) para complexos finitos,  $R$  (do inglês, *Ring*) para anéis,  $a$  para o número de átomos aceitadores,  $d$  para o número de átomos doadores e  $n$  para o número total de átomos.<sup>13, 15, 18-20</sup> Na Figura 1.3 encontram-se representados alguns exemplos ilustrativos da teoria de grafos.

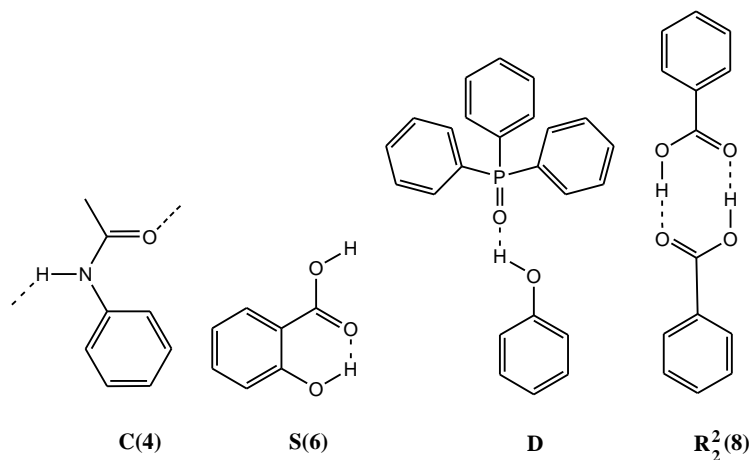


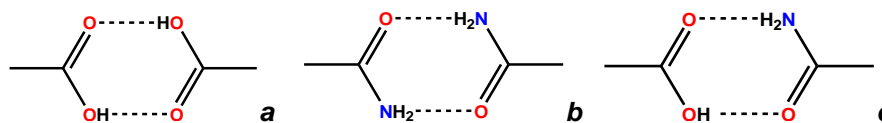
Figura 1.3 Exemplos da aplicação da teoria de grafos.<sup>15</sup>

#### 1.1.1.2 Sintões supramoleculares e empacotamentos cristalinos

De um modo geral, e sob o ponto de vista das interações intermoleculares, as estruturas cristalinas podem ser observadas como “blocos” de construção (do inglês, *building blocks*) ligados por sintões supramoleculares.<sup>21-23</sup> Estes sintões são definidos como “unidades estruturais constituintes da estrutura cristalina (‘supermolécula’), baseadas em interações intermoleculares.”<sup>4</sup> A definição de sintões supramoleculares foi introduzida por Corey, em 1967, no contexto das reações químicas orgânicas.<sup>23</sup>

Os sintões supramoleculares podem ser divididos em duas categorias: homosintões, em que as interações ocorrem entre o mesmo tipo de grupos funcionais (por exemplo ácidos

carboxílicos e amidas – Figura 1.4a e 1.4b), e heterosintões, onde os grupos funcionais que estabelecem interações são diferentes, mas complementares (Figura 1.4c).<sup>2</sup>



**Figura 1.4** Exemplos de sintões supramoleculares: **a e b** – homosintões entre ácidos carboxílicos e amidas; **c** – heterosintão entre um ácido carboxílico e uma amida.

Os homosintões ocorrem frequentemente em estruturas cristalinas com apenas um componente. No entanto, a sua existência tem sido observada também em estruturas constituídas por moléculas diferentes, mas com o mesmo grupo funcional (por exemplo, ácidos carboxílicos).<sup>24</sup> Por outro lado, se existir mais do que um tipo de grupos funcionais, é expectável que reajam tendencialmente de modo a formarem heterosintões.<sup>2, 25</sup>

Os grupos funcionais nas moléculas interagem entre si tendo em consideração combinações complexas de fatores geométricos e químicos, sendo os padrões de interação relativamente específicos. Estes padrões fazem parte das características do reconhecimento molecular. Os conceitos e princípios deste reconhecimento, e a natureza das interações que medeiam a construção de estruturas supramoleculares, são aproximadamente os mesmos em solução e em estado sólido.<sup>23</sup>

A engenharia de cristais e o reconhecimento molecular são, sob o ponto de vista supramolecular, equivalentes à tradicional síntese orgânica, mas em vez de se considerar a construção molecular através de ligações covalentes, constroem-se estruturas cristalinas a partir de interações não-covalentes, reconhecendo certas repetições de padrões de interação, ou sintões supramoleculares, que constituem os elementos chave para o exercício sintético. A partir da repetição de determinados padrões é possível prever qual a probabilidade de se formar um sintão específico numa estrutura cristalina. Deste modo, a robustez dos sintões constitui uma característica bastante importante para a engenharia de cristais, pois permite que a síntese supramolecular seja focada no sentido de se obter a estrutura cristalina desejada com elevados rendimentos.<sup>23</sup>

Compreender a reatividade molecular a partir dos sintões torna-se assim essencial na previsão do tipo de interações supramoleculares, na sua possível distribuição espacial que leva à formação de determinado empacotamento cristalino. Neste sentido, é necessário recorrer a base de dados cristalográficas que permitam fornecer informação respeitante à reatividade química dos grupos funcionais em estudo. A base de dados estrutural da Cambridge (*Cambridge Structural Database (CSD)*)<sup>26</sup> tornou-se numa ferramenta essencial na determinação de probabilidades associadas à formação de determinados sintões. Quanto maior for essa probabilidade, maior a capacidade de se formarem estruturas cristalinas com esse tipo de interações. Na Figura 1.5 encontram-se representados alguns exemplos de vários

sintões estabelecidos entre fragmentos de ácidos carboxílicos, amidas e piridinas, e as respectivas probabilidades de formação.<sup>5</sup>

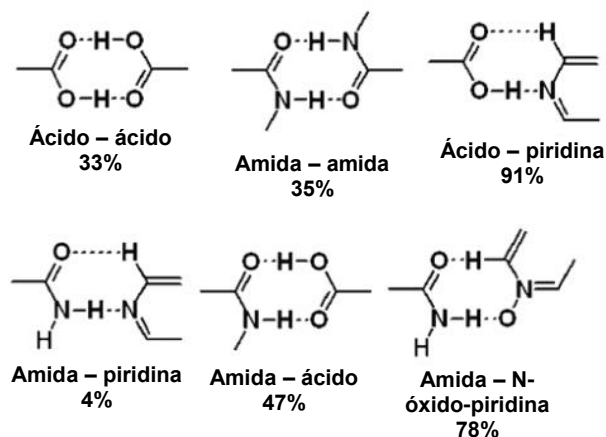


Figura 1.5 Probabilidade de formação de homosintões e heterosintões supramoleculares na CSD.<sup>5</sup>

## 1.2 Princípios Farmacologicamente Ativos (PFAs)

O processo de descoberta de fármacos pode ser caracterizado por duas fases. A primeira, que tem em consideração fatores temporais, é designada por “descoberta da estrutura” e a segunda é denominada por “fármaco candidato”.<sup>27</sup> A primeira fase envolve a seleção da melhor estrutura molecular do fármaco, enquanto a segunda consiste na seleção da melhor forma sólida. Geralmente, cerca de cinco a dez estruturas moleculares passam pela segunda fase, sendo o resultado dessa fase, a seleção do Princípio Farmacologicamente Ativo (PFA) final para posterior formulação da forma sólida.<sup>27, 28</sup>

Um PFA é definido pela *Food and Drug Administration* (FDA), como “qualquer substância ou mistura de substâncias que sejam utilizadas na manufatura de produtos farmacêuticos e que, quando utilizadas na produção de um fármaco, se tornem ingredientes ativos no produto farmacêutico. Tais substâncias devem possuir atividade biológica ou ter efeito direto no diagnóstico, cura, tratamento ou prevenção de patologias”.<sup>3</sup>

Os fármacos possuem geralmente na sua composição um PFA (princípio ativo por si só) e um excipiente (líquido, ou qualquer substância que seja farmacologicamente inerte) que constitui o suporte onde o PFA é disperso. O princípio ativo é frequentemente administrado na forma sólida (cápsulas ou comprimidos), uma vez que os sólidos possibilitam um formato compacto e geralmente estável para o seu armazenamento.<sup>2</sup>

O problema geralmente relacionado com a utilização direta do PFA cristalino, enquanto fármaco por excelência, prende-se com a reduzida ou elevada solubilidade<sup>29</sup> que na grande maioria dos casos apresenta. Esta limitação pode influenciar negativamente outras propriedades do PFA, como velocidade de dissolução e biodisponibilidade, podendo consequentemente interferir com o seu desempenho farmacológico (baixa absorção por via oral e falta de capacidade para se libertar no organismo por outras vias de administração como

injeção e inalação).<sup>2</sup> A estratégia mais comum e correntemente aplicada pela indústria farmacêutica, no sentido de melhorar a biodisponibilidade e otimizar a liberação do fármaco no organismo, consiste na preparação de sais orgânicos a partir de compostos ionizáveis, utilizando ácidos e bases farmacologicamente disponíveis e aceites. Contudo, no caso dos compostos que não possuem grupos funcionais passíveis de serem ionizados e que, por esse motivo, não podem formar sais estáveis em meio aquoso, as alternativas têm passado por reduzir o tamanho das partículas para uma escala nanométrica,<sup>2, 29</sup> amorfizar ou solubilizar os PFAs em meios não-aquosos. Importa salientar que algumas das novas formulações resultantes da aplicação destes processos alternativos apresentam mais problemas físico-químicos do que os PFAs cristalinos.<sup>2</sup>

Tendo em consideração fatores de estabilidade, os sólidos farmacêuticos podem existir sob as formas amorfas ou cristalinas. Apesar de alguns sólidos amorfos melhorarem a solubilidade do PFA em sistemas aquosos, apresentam instabilidade termodinâmica que se traduz numa evolução tendencial para a forma cristalina, mais estável.<sup>2, 30</sup> As formas cristalinas, por outro lado, são preferenciais, uma vez que exibem uma maior estabilidade físico-química e são mais fáceis de isolar. Adicionalmente e tendo em conta o processo de recristalização utilizado, é possível eliminar com relativa facilidade as impurezas que resultam desse processo.<sup>2</sup>

Para a indústria farmacêutica torna-se, deste modo, fundamental encontrar outras alternativas mais viáveis para solucionar os problemas físico-químicos dos PFAs, especialmente os de solubilidade, uma vez que dificultam os estudos pré-clínicos do novo “fármaco candidato” e limitam também as dosagens que são administradas.<sup>28, 29</sup> Neste sentido têm sido estudadas e desenvolvidas nas últimas décadas novas formas cristalinas dos PFAs que incluem, não só, os polimorfos e sais (como já tem vindo a ser desenvolvido), mas também os solvatos, hidratos e, mais recentemente, os co-cristais.<sup>31, 32</sup> Cada uma destas formas apresenta propriedades físico-químicas únicas que podem influenciar amplamente a solubilidade, biodisponibilidade, estabilidade à temperatura e humidade atmosféricas, e compressibilidade e manufatura (tendo em consideração os processos industriais).<sup>32</sup>

### **1.2.1 Polimorfismo e importância na indústria farmacêutica**

Polimorfismo, um fenómeno inicialmente reconhecido no contexto da cristalografia, por Mitscherlich entre 1822-1823, surgiu com a descoberta de diferentes estruturas cristalinas para o mesmo composto numa série de fosfatos e sais de arsénio. Em 1965, McCrone definiu este termo que deriva do grego (*poly*=muitas, *morph*=forma) como “uma fase sólida cristalina de um determinado composto resultante da possibilidade de existirem dois ou mais arranjos diferentes de moléculas desse composto no estado sólido”.<sup>33-36</sup> Na Figura 1.6 encontra-se representado um esquema pictórico do polimorfismo.

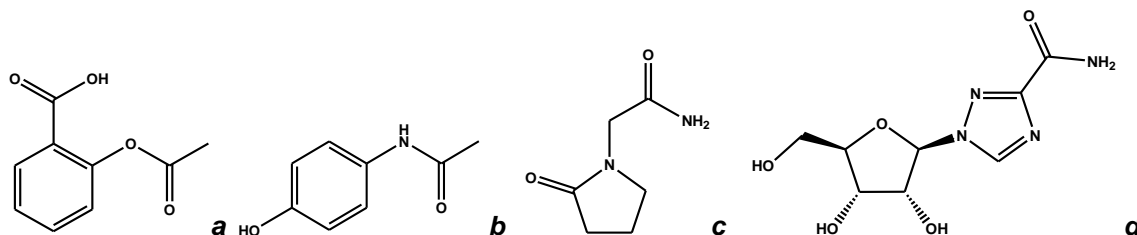


**Figura 1.6** Exemplo representativo do polimorfismo: **a** e **b** consistem em diferentes arranjos estruturais demonstrados pelas diferentes formas da célula unitária (representado a preto).<sup>3</sup>

Ainda que exista algum debate sobre a definição global de polimorfismo, a definição de McCrone permanece, sendo atualmente razoável considerar o polimorfismo como a capacidade de um composto cristalizar em duas ou mais fases cristalinas com diferentes arranjos e/ou conformações moleculares dentro da rede cristalina.<sup>33</sup> Estes arranjos são responsáveis pelas diferentes propriedades físico-químicas encontradas entre diferentes polimorfos, sendo de extrema importância a reprodutibilidade e o controlo do processo inerente à síntese de determinado polimorfo.<sup>33, 35</sup> O polimorfismo é um fenómeno característico do estado sólido (ocorre proeminentemente em moléculas que contém vários grupos funcionais) e, portanto, as diferenças estruturais e físico-químicas dissipam-se quando ocorre fusão, vaporização ou dissolução, uma vez que as estruturas polimórficas iniciais transformam-se em compostos semelhantes entre si, através da rutura de ligações de hidrogénio ou de outras interações intermoleculares responsáveis pelo empacotamento no estado sólido.<sup>33-35</sup>

A importância do polimorfismo na indústria farmacêutica terá adquirido relevância com o fármaco Ritonavir. Comercialmente vendido como Norvir, é utilizado como inibidor da protéase responsável pelo vírus da imunodeficiência humana que, uma vez manifestado, causa a síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA). Foi lançado no mercado em 1996 pela empresa de fabricação Abbott e distribuído durante dezoito meses sem existirem problemas na síntese do princípio ativo. Contudo, algo de inesperado sucedeu após a repetição do processo sintético. O fármaco não se dissolveu em solução e precipitou. Após investigações consideráveis constatou-se que existia uma forma polimórfica mais estável termodinamicamente e menos solúvel (*forma II*). Surpreendentemente, a farmacêutica revelou dificuldades em produzir a *forma I*, provavelmente devido às condições experimentais não terem sido reproduzidas na totalidade.<sup>35, 37, 38</sup>

A frequência com que ocorre a formação de formas polimórficas ainda não é totalmente conhecida. São exemplos de polimorfismo, os fármacos aspirina<sup>39</sup>, paracetamol<sup>31</sup>, piracetam<sup>40, 41</sup> e virazole<sup>34</sup> (Figura 1.7).



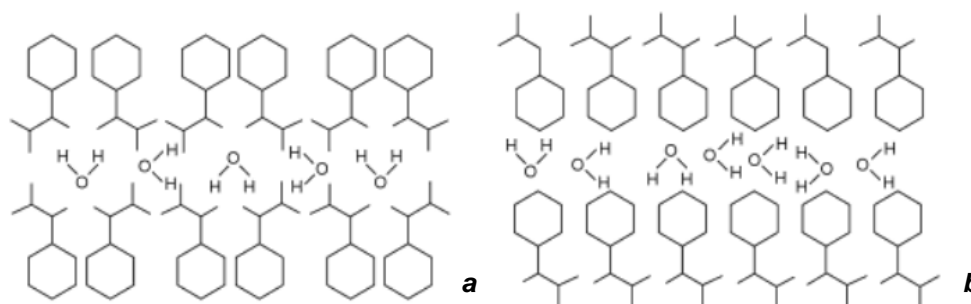
**Figura 1.7** Representação da estrutura química dos fármacos: **a** – aspirina; **b** – paracetamol; **c** – piracetam e **d** – virazole.

A incapacidade de prever a formação de polimorfos e, de um modo geral, de qualquer estrutura cristalina tem importantes implicações científicas, especialmente no domínio da propriedade intelectual.<sup>42</sup> Se durante a formulação de um fármaco ocorrer formação de um novo polimorfo, a patente atribuída pode ser contestada. Por outro lado, a descoberta de um novo polimorfo pode resultar numa melhoria da performance físico-química do princípio ativo, permitindo o desenvolvimento de um novo produto farmacêutico.<sup>27, 43</sup>

### 1.2.2 Anidros, hidratos, solvatos e sua aplicação na indústria farmacêutica

Para a indústria farmacêutica, a escolha do PFA na formulação de um fármaco, recai sobre a sua forma anidra. As formas anidras, juntamente com os sais, fazem parte da constituição da maioria dos fármacos existentes no mercado. Se, por algum motivo, a forma anidra não for adequada (por exemplo, se possuir baixa solubilidade, instabilidade e contiver formas polimórficas complexas), então é equacionada como alternativa a utilização de hidratos/solvatos.<sup>27</sup>

Um hidrato contém moléculas de água na estrutura cristalina que podem estar numa proporção estequiométrica ou não-estequiométrica<sup>32, 44, 45</sup> (Figura 1.8). Quando o solvente não é água, o termo designa-se genericamente por solvato. Cerca de um terço das substâncias farmacologicamente ativas possuem capacidade para formar hidratos. Para a formulação do fármaco, são utilizados hidratos numa proporção estequiométrica, em que moléculas de água estabelecem interações por pontes de hidrogénio com a substância ativa. Morris demonstrou numa pesquisa que os hidratos estequiométricos são frequentemente encontrados em substâncias farmacológicas e que a frequência dos números de coordenação de moléculas de água (di, tri, tetra, hidratos) decresce exponencialmente.<sup>46</sup>



**Figura 1.8** Classificação dos diferentes hidratos: **a** - hidrato estequiométrico com redes regulares formadas por pontes de hidrogênio; **b** - hidrato não-estequiométrico com moléculas de água dentro das cavidades.<sup>46</sup>

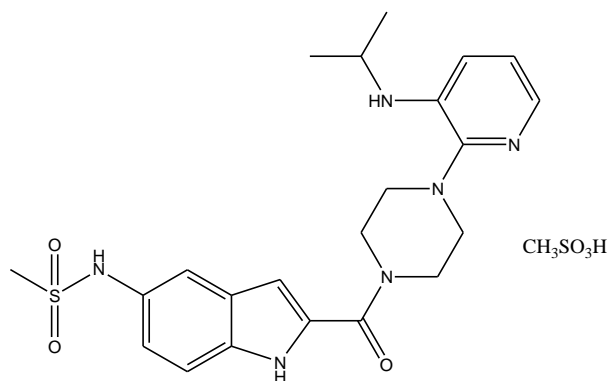
A desidratação de um hidrato estequiométrico resulta frequentemente no colapso da estrutura cristalina, podendo originar uma estrutura amorfa que pode, posteriormente, cristalizar numa forma menos solúvel.

Os hidratos e solvatos geralmente apresentam diferentes solubilidades e, conseqüentemente, diferentes velocidades de dissolução intrínsecas. O perfil de estabilidade destas formas, a várias temperaturas e a diferentes pressões de vapor de água ou de outros solventes orgânicos, difere do que é apresentado pelas formas anidras. Estas diferenças podem influenciar a formulação, processamento e estabilidade (sob condições de armazenamento) do fármaco.<sup>44</sup>

### 1.2.3 Sais e co-cristais farmacêuticos

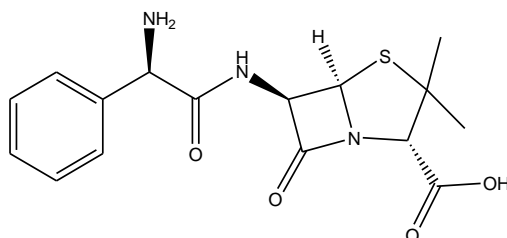
Os sais são formas sólidas constituídas por espécies carregadas negativamente e positivamente numa proporção estequiométrica. Assim, um sal farmacêutico compreende um PFA e um contra-íon aniônico ou catiónico que pode ser molecular ou monoatômico (por exemplo, anião iodeto).<sup>47</sup> Estima-se que cerca de metade dos fármacos disponíveis no mercado estejam sob a forma de sais.<sup>47</sup> Para a indústria farmacêutica, a síntese de sais é a estratégia escolhida na abordagem do problema de solubilidade. A formação de sais pode melhorar a solubilidade de princípios ativos ácidos e básicos, por várias ordens de grandeza que, por sua vez, têm impacto na velocidade de dissolução.<sup>47, 48</sup> Recentemente foi reportado que a solubilidade do mesilato de delveridina (Figura 1.9) foi incrementada duas mil vezes, passando de 143 µg/mL (valor de solubilidade do PFA a pH 6) a 320 mg/mL. Verificou-se ainda que os sais de mesilato são mais solúveis do que qualquer sal de fármacos contendo o grupo amina.<sup>49</sup>





**Figura 1.9** Representação da estrutura química do mesilato de delavirdina.

É imperativo que o perfil de biodisponibilidade de um fármaco satisfaça as exigências regulamentares: a fraca biodisponibilidade pode tornar um fármaco pouco eficaz enquanto uma elevada biodisponibilidade pode torná-lo tóxico.<sup>50</sup> A solubilidade, como já referido anteriormente, também constitui uma propriedade determinante para a biodisponibilidade, sendo a alteração desta propriedade, através da formação de sais, utilizada para melhorar a desempenho bio-farmacêutico.<sup>48</sup> De um modo geral, admite-se que os sais possuem elevada biodisponibilidade comparativamente ao próprio PFA ou a hidratos, e são biologicamente mais seguros do que os solvatos.<sup>30, 51</sup> Por exemplo, os sais de sódio e potássio da ampicilina (Figura 1.10) demonstram uma maior biodisponibilidade com uma velocidade de absorção substancialmente mais elevada do que os tri-hidratos respetivos.<sup>50, 51</sup>



**Figura 1.10** Representação da estrutura química da ampicilina.

Para a obtenção de sais recorre-se, frequentemente, aos valores de pKa das entidades envolvidas. Para um grupo de contra-íons complementares, é esperada uma diferença entre os valores de pKa ( $\Delta pK_a$ ) maior ou igual a 3 para a formação favorável de um sal. Contudo, evidências empíricas sugerem que não existe um universo de valores de  $\Delta pK_a$  definidos para os quais seja garantida a formação de um sal para todos os pares ácido-base considerados.<sup>3, 25, 50, 52</sup>

Uma das limitações dos sais reside no facto do PFA necessitar de ter grupos funcionais passíveis de sofrer ionização (ácidos ou bases) para que a transferência de prótons ocorra. Nesse sentido, têm vindo a ser desenvolvidas alternativas que passam pelo recurso a métodos de co-cristalização.<sup>2, 53</sup>

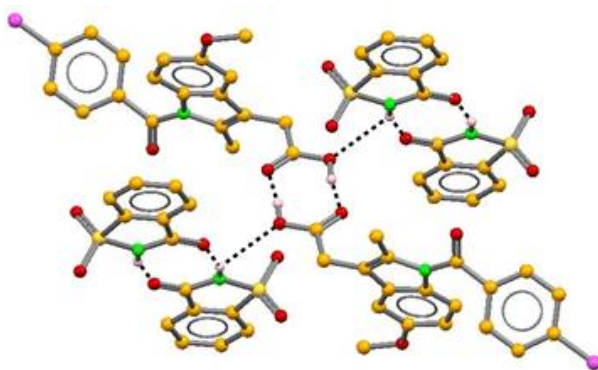
Um co-cristal é definido como uma espécie cristalina constituída por dois ou mais componentes neutros e que, quando na forma pura e em condições ambientais, se encontram no estado sólido. Esta definição permite distinguir os co-cristais de outras formas sólidas como solvatos e hidratos que contêm, pelo menos, um componente puro no estado líquido.<sup>54</sup> Ademais, o critério de que todos os componentes são sólidos sob condições ambientais, possui considerações práticas que se traduzem na possibilidade dos co-cristais poderem ser produzidos através de métodos de síntese no estado sólido, como a mecanoquímica.<sup>55</sup>

Os co-cristais farmacêuticos possuem a vantagem de se poderem formar independentemente de existirem grupos funcionais capazes de serem ionizados. A sua formação depende da complementaridade existente entre os grupos funcionais do PFA e do co-cristalizante utilizado (composto farmacologicamente ativo ou inerte mas aceite como seguro para aplicação farmacêutica) de modo a ocorrerem interações intermoleculares no estado sólido. O número de co-cristalizantes que podem ser incorporados em estruturas cristalinas com finalidade terapêutica é mais extensivo do que o número de ácidos e bases existentes para produzir sais.<sup>56</sup> Estas novas formas cristalinas também representam uma oportunidade para a criação de patentes de novas formulações de fármacos já existentes.<sup>57</sup>

Os co-cristais farmacêuticos representam uma oportunidade estratégica para a otimização das propriedades físico-químicas de um PFA preservando a estrutura molecular e, por conseguinte, a sua atividade biológica uma vez que não é necessário quebrar ou formar ligações covalentes.

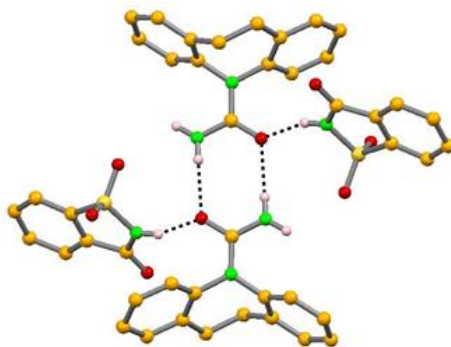
A biodisponibilidade é uma das propriedades físico-químicas mais estudada de um PFA e existem vários estudos que descrevem a melhoria desta propriedade após co-cristalização.<sup>58-</sup>

<sup>63</sup> A indometacina, fármaco anti-inflamatório não-esteroidal, é um exemplo de um PFA que apresenta fraca biodisponibilidade.<sup>64</sup> Possui dois polimorfos conhecidos,  $\alpha$ <sup>65</sup> e  $\gamma$ <sup>66</sup>, sendo este último o mais estável termodinamicamente e à temperatura ambiente. A co-cristalização com sacarina (Figura 1.11) produz uma forma sólida estável com melhorias significativas da biodisponibilidade, o que tornou possível a sua utilização para fins terapêuticos.<sup>67</sup>



**Figura 1.11** Representação do empacotamento cristalino da indometacina com a sacarina.

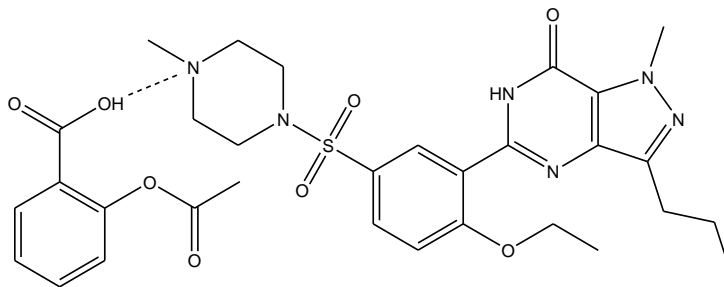
Outro PFA em que a biodisponibilidade foi amplamente melhorada após co-cristalização com a sacarina, foi o anticonvulsante carbamazepina (comercialmente vendido por Tegretol).<sup>68</sup> Este PFA é conhecido por possuir cinco polimorfos anidros,<sup>69-71</sup> um dihidrato,<sup>72</sup> vários solvatos<sup>73-78</sup> e co-cristais,<sup>79-81</sup> e dois sais de amônia.<sup>82</sup> Contudo é o co-cristal com a sacarina (Figura 1.12) que desempenha uma superioridade particularmente marcante no que diz respeito ao perfil de biodisponibilidade exibindo, também, uma estabilidade físico-química semelhante aos polimorfos da carbamazepina.<sup>68</sup>



**Figura 1.12** Representação do empacotamento cristalino da carbamazepina com a sacarina.

Para a indústria farmacêutica é igualmente importante a formulação de fármacos que contenham na sua composição dois PFAs (efeito sinérgico), uma vez que é possível fornecer doses mais convenientes aos pacientes através da combinação complementar de dois princípios ativos (por exemplo um antibiótico e um analgésico) num único fármaco.<sup>83</sup> A economia de recursos relacionados com a manufatura, empacotamento e armazenamento de fármacos também constitui outra vantagem.<sup>47</sup>

Um exemplo de um co-cristal que contém dois PFAs é o sildenafil:ácido acetilsalicílico (Figura 1.13). Sildenafil, mais conhecido por Viagra, é um fármaco utilizado no tratamento da disfunção erétil e da hipertensão arterial pulmonar. O ácido acetilsalicílico (aspirina) é um anti-inflamatório não-esteroidal utilizado para aliviar a dor, inflamação, reduzir a febre (antipirético) e para o tratamento de doenças cardíacas.<sup>84</sup> O co-cristal destes dois PFAs foi patenteado para o tratamento de doenças cardíacas e disfunção erétil masculina. Adicionalmente apresenta propriedades físico-químicas favoráveis como elevada velocidade de dissolução.<sup>84</sup>

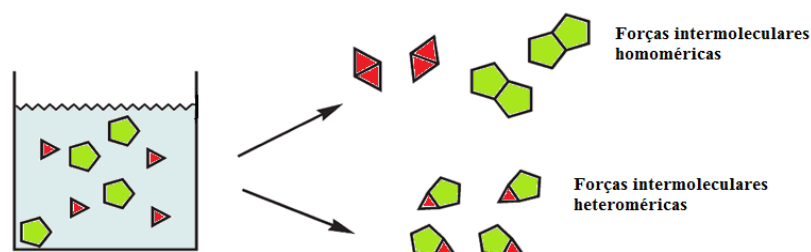


**Figura 1.13** Co-cristal sildenafil:ácido acetilsalicílico.

É de extrema importância salientar que a biodisponibilidade de um fármaco resulta do compromisso entre várias propriedades como solubilidade, velocidade de dissolução, tamanho das partículas e estabilidade em solução.<sup>32, 53</sup> Esta última desempenha um papel marcante, uma vez que se encontra diretamente relacionada com a capacidade de uma determinada forma sólida manter a sua estrutura em solução. Vários estudos efetuados revelaram que algumas formas cristalinas, especialmente co-cristais, apresentam reduzida estabilidade, apesar do seu perfil de solubilidade se apresentar adequado.<sup>53, 85</sup> Os estudos das formas sólidas em solução aquosa permitem fornecer uma indicação sobre a possibilidade de ocorrer fenómenos de dissociação das formas em estudo ou precipitação de novas formas. Outros meios, como fluidos gástricos e intestinais e soluções tampão utilizadas para variar condições de pH do meio aquoso, também constituem uma importante aproximação na simulação de sistemas biológicos com o intuito final de avaliar o desempenho físico-químico das formas sólidas em estudo.<sup>53</sup>

### 1.3 Métodos de síntese: solução e mecanoquímica

As formas sólidas cristalinas (polimorfos, solvatos, sais e co-cristais) são muitas vezes obtidas através de procedimentos em solução, que envolvem as etapas da dissolução, evaporação lenta do solvente e cristalização.<sup>4</sup> O processo de cristalização pode resultar na formação de produtos homoméricos (recristalização) ou heteroméricos (co-cristalização) (Figura 1.14). O sucesso de um processo implica o insucesso do outro sendo, de um modo geral, mais elevada a probabilidade de se obter um produto homomérico.<sup>54</sup>



**Figura 1.14** Representação esquemática da diferença entre cristalização (forças intermoleculares homoméricas) e co-cristalização (forças intermoleculares heteroméricas).<sup>54</sup>

A síntese de formas sólidas farmacêuticas a partir da solução pode ser considerada como contraintuitiva uma vez que a cristalização é um método de purificação bastante eficiente e amplamente utilizado pela indústria farmacêutica para purificar compostos. Contudo, se em diferentes moléculas que contêm grupos funcionais complementares, existirem interações supramoleculares energeticamente mais estáveis do que as que se formam entre moléculas do mesmo composto, então a formação do produto heteromérico apresenta-se como um processo termodinamicamente favorável (não implicando necessariamente que seja cineticamente favorável).<sup>54</sup>

Se no processo de co-cristalização ocorrer transferência de prótons entre o PFA e o co-cristalizante, o resultado é um sal molecular em que as interações estabelecidas são pontes de hidrogénio assistidas por carga. Se, por outro lado, houver formação de interações intermoleculares, como pontes de hidrogénio fortes e/ou interações  $\pi \cdots \pi$ , sem que ocorra transferência protónica, então o produto final é um co-cristal. Estas formas cristalinas podem ser solvatadas se as moléculas de solvente participarem nas interações.<sup>4, 54, 86</sup>

Para que o produto final resulte de um processo de co-cristalização, é necessário escolher cuidadosamente o co-cristalizante apropriado e capaz de estabelecer interações intermoleculares com o PFA em estudo.<sup>86</sup> Como já foi mencionado anteriormente, esta escolha passa pela pesquisa em bases de dados que permitam fornecer informação sobre os sinais mais promissores na formação de interações intermoleculares.<sup>23</sup>

Contudo, a utilização de solventes acarreta um aumento de custos para a realização do processo e propensão, também, alguma poluição ambiental. Os problemas de solubilidade (muito reduzida ou muito elevada) e a solvólise colocam sérias limitações na utilização deste método.<sup>31, 86</sup>

Outras metodologias sintéticas têm sido investigadas e aplicadas para a síntese de novas formas cristalinas, como a sublimação, crescimento a partir da fusão, suspensões e mecanoquímica (moagem).<sup>55</sup>

Em 1893, Patil e colaboradores aplicaram experimentalmente a mecanoquímica na síntese do co-cristal quinidrona, a partir de quantidades estequiométricas de *para*-benzoquinona e hidroquinona. Não obstante, esta técnica começou a desenvolver esforços com Paul e Curtin, e Etter e colaboradores, que demonstraram que a síntese supramolecular em estado sólido fornece um elevado grau de reconhecimento molecular e permite a construção de uma diversidade de formas sólidas.<sup>55</sup> A eficiência deste método pauta-se pela capacidade de se evitarem os comuns problemas de solubilidade de certos PFAs associados ao processo de cristalização a partir da solução.<sup>86</sup>

A mecanoquímica pode ser classificada em dois métodos que dependem da presença ou ausência de solvente no processo de co-cristalização sendo designados, respetivamente, por moagem assistida por solvente e moagem na ausência de solvente.<sup>4, 55, 86</sup> Historicamente, o primeiro método a ser utilizado foi a moagem na ausência de solvente, que consiste em misturar os reagentes e moê-los num almofariz ou num moinho de bolas.<sup>55</sup> Posteriormente foi implementada a moagem assistida por solvente que consiste em adicionar uma quantidade catalítica de solvente a uma mistura de reagentes, moendo-os seguidamente. Este método, originalmente designado por moagem com gota de solvente,<sup>86</sup> foi introduzido com o objetivo de incrementar a velocidade de formação de co-cristais em estado sólido sabendo-se, no entanto, que a sua aplicação apresenta outros benefícios entre os quais eficiência na preparação de outras formas cristalinas farmacêuticas (como sais moleculares), elevados rendimentos reacionais, elevada cristalinidade do produto obtido e possibilidade de controlar a formação de polimorfos. Ademais, a utilização de quantidades catalíticas de solvente, permite que seja considerado um método de “química verde”.<sup>4</sup>

## 1.4 *Cristalografia de raios-X*

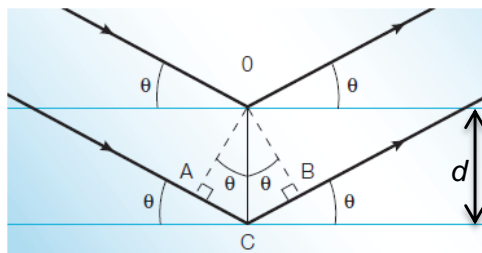
O conhecimento da estrutura molecular dos materiais constitui um dos objetivos fundamentais da química e é essencial para uma correta compreensão das suas propriedades físicas e químicas. O termo “estrutura” possui vários significados sendo descrito, no contexto deste trabalho, como o estudo das posições relativas dos átomos ou iões numa estrutura molecular e a sua descrição geométrica em termos de distâncias de ligação e ângulos. A determinação estrutural pode ser utilizada com as finalidades de identificar um novo composto sintetizado, compreender como foi formado e determinar qual a sua geometria detalhada. Estes parâmetros podem ainda constituir um importante veículo na investigação da reatividade, ligação e relações estrutura-energia e estrutura-atividade das moléculas.<sup>87</sup>

A cristalografia de raios-X apresenta-se como a técnica mais eficiente na determinação estrutural uma vez que, não sendo destrutiva, permite obter uma descrição completa e detalhada da estrutura em termos de constituição atômica bem como de ligações estabelecidas entre os átomos.<sup>87</sup> Esta técnica baseia-se na interação da radiação com a matéria, onde normalmente se fixa o comprimento de onda e se mede a variação da intensidade com a direção, ou seja, a dispersão da radiação monocromática. A partir destas medidas é possível obter uma descrição geométrica completa da estrutura. A variação de intensidade é causada por efeitos de interferência entre a radiação e os átomos da estrutura, ou seja a difração.<sup>88, 89</sup>

### 1.4.1 *Fundamentos da cristalografia de raios-X*

A difração de raios-X (DRX) de cristais foi descoberta por M. Von Laue em 1912 que mostrou que o fenómeno podia ser descrito como a difração de uma rede tridimensional. Contudo, William Laurence Bragg foi pioneiro na exploração da semelhança entre a difração e a comum reflexão, demonstrando que a distância angular da radiação dispersa pode ser interpretada considerando que os raios difratados possuem um comportamento semelhante aos refletidos por planos que passam através de pontos da rede cristalina.<sup>32, 87, 90</sup>

Considerando dois ou mais planos de uma estrutura cristalina, as condições para que ocorra a difração de raios-X (interferência construtiva ou numa mesma fase) vão depender da diferença de caminho percorrida pelos raios X e o comprimento de onda da radiação incidente (Figura 1.15). Esta condição é expressa pela lei ou equação de Bragg,  $n\lambda = 2d\sin\theta$ , onde  $\lambda$  corresponde ao comprimento de onda da radiação incidente,  $n$  a um número inteiro (ordem de difração),  $d$  à distância interplanar para o conjunto de planos  $h\ k\ l$  (índices de Miller) da estrutura cristalina e  $\theta$  ao ângulo de incidência dos raios-X (medido entre o feixe incidente e os planos da estrutura cristalina).<sup>32, 87</sup>



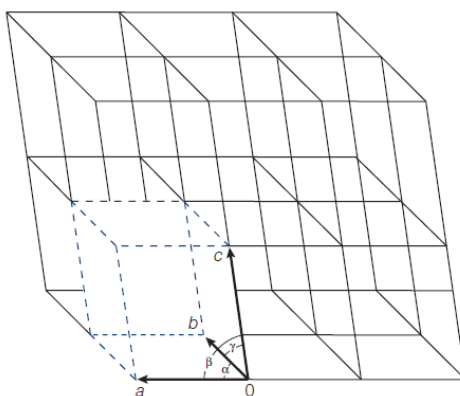
**Figura 1.15** Condições para a difração de Bragg num conjunto de planos espaçados por uma distância  $d$ .<sup>32</sup>

Laurence Bragg e seu pai Henry Bragg deduziram a estrutura cristalina de várias substâncias (incluindo vários halogenetos de alquila e diamantes) e, em reconhecimento deste trabalho científico, ganharam o prêmio Nobel da Física em 1915.<sup>90</sup>

A intensidade difratada, entre outros fatores, é dependente do número de elétrons no átomo. Os átomos encontram-se distribuídos no espaço de tal forma que os vários planos de uma estrutura cristalina possuem diferentes densidades eletrônicas, fazendo com que as intensidades difratadas sejam, por consequência, distintas para os diversos planos cristalinos.<sup>89</sup>

#### 1.4.2 Estado cristalino: conceitos fundamentais

Os cristais consistem em “blocos” de construção, em que cada um contém características estruturais e elementos de simetria (translação, rotação, planos de reflexão, e centros de inversão) que se encontram repetidos regularmente num espaço tridimensional. Cada “bloco” de construção é designado por célula unitária (Figura 1.16) e contém, pelo menos, uma molécula.<sup>32, 89</sup> O comprimento de cada face, na célula unitária, é representado por  $a$ ,  $b$  e  $c$  e os ângulos por  $\alpha$  (entre o lado  $b$  e  $c$ ),  $\beta$  (entre o lado  $a$  e  $c$ ) e  $\gamma$  (entre os lados  $a$  e  $b$ ).<sup>32, 87</sup>



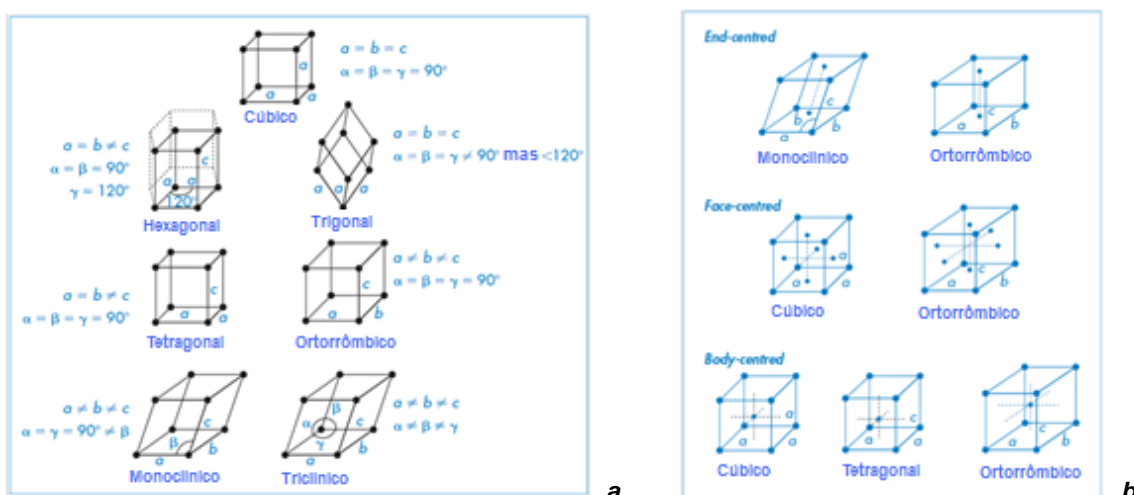
**Figura 1.16** Representação da célula unitária tridimensional.<sup>32</sup>

Designa-se por unidade assimétrica a menor unidade independente da célula unitária a partir da qual, e por aplicação de operações de simetria como a rotação, reflexão, inversão e

translação do grupo espacial correto (descrição da simetria de um cristal), se obtém a estrutura cristalina completa.<sup>89</sup>

Para um cristal específico, cada célula unitária possui o mesmo tamanho e contém o mesmo número de moléculas e iões rearranjados da mesma forma. É usualmente conveniente pensar nos átomos e moléculas como pontos e o cristal como um conjunto tridimensional desses pontos, ou rede cristalina.<sup>89</sup>

A simetria cristalina é dividida em sete células unitárias básicas ou primitivas (Figura 1.17a), que dependem das operações de simetria aplicadas. Os átomos ou moléculas podem estar localizados no vértice de cada célula. No entanto, é possível encontrar células unitárias com átomos ou moléculas no centro das faces superiores e inferiores (do inglês, *end-centred*), no centro de cada face (do inglês, *face-centred*) ou com um átomo no centro da célula (do inglês, *body-centred*), como ilustrado na Figura 1.17b.<sup>85</sup>



**Figura 1.17** Representação das sete células unitárias primitivas: **a** - átomos ou moléculas presentes apenas nos vértices de cada célula; **b** - variações nas células primitivas, com os átomos ou moléculas a ocuparem posições centrais na célula.<sup>85</sup>

Deste modo existem catorze redes cristalinas, deduzidas por Frankenheimer e Bravais no século XIX e designadas, posteriormente, por redes de Bravais. Para os fármacos, existem três tipos comuns de célula unitária: triclínico, monoclínico e ortorrômico.<sup>85</sup>

As estruturas organizadas nestas redes cristalinas não possuem obrigatoriamente os mesmos elementos de simetria. As combinações possíveis desses elementos resultam em duzentos e trinta combinações totais que correspondem aos duzentos e trinta grupos espaciais existentes em cristalografia, cujas propriedades de simetria se encontram bem estabelecidas e documentadas em livros e tabelas, sendo o veículo de consulta mais utilizado,<sup>85, 88, 89</sup> as Tabelas Internacionais de Cristalografia de Raios-X (*International Tables of X-Ray Crystallography*).<sup>91</sup>



### 1.4.3 Difração de raios-X de mono cristal (DRXMC)

A determinação da estrutura cristalina é convencionalmente realizada através da difração de raios-X de mono cristal (DRXMC), que se apresenta como uma técnica inequívoca. A aplicação desta técnica requer cristais com qualidade e dimensão apropriadas. De um modo geral, a dimensão mínima ao longo de cada eixo num cristal deverá idealmente exceder os 0,05 mm, a não ser que exista um átomo pesado (com um número atômico superior a 17) nos constituintes moleculares. Cada cristal possui um padrão de difração único e que depende da respetiva estrutura interna. A solução da estrutura molecular, que fornece as posições atômicas de todos os átomos, é determinada a partir das intensidades fornecidas pelo padrão de difração.<sup>85</sup> Estas propriedades tornam a DRXMC numa técnica de caracterização estrutural de extrema importância e utilidade, uma vez que é possível retirar várias informações como o sistema cristalino, tipo de redes Bravais, grupo espacial, parâmetros da rede cristalina, densidade cristalográfica, simetria molecular, configuração absoluta, estrutura tridimensional e empacotamento, distâncias precisas de ligação, conformação molecular, parâmetros das ligações intermoleculares, raios de van der Waals, volume molecular, distribuição eletrônica e desordem estática e dinâmica nos sólidos cristalinos.<sup>87, 89</sup>

Na Figura 1.18a e 1.18b encontra-se, respetivamente, uma representação pictórica do processo de difração de raios-X em mono cristal<sup>92</sup> e o padrão de difração do diamante<sup>90</sup>.

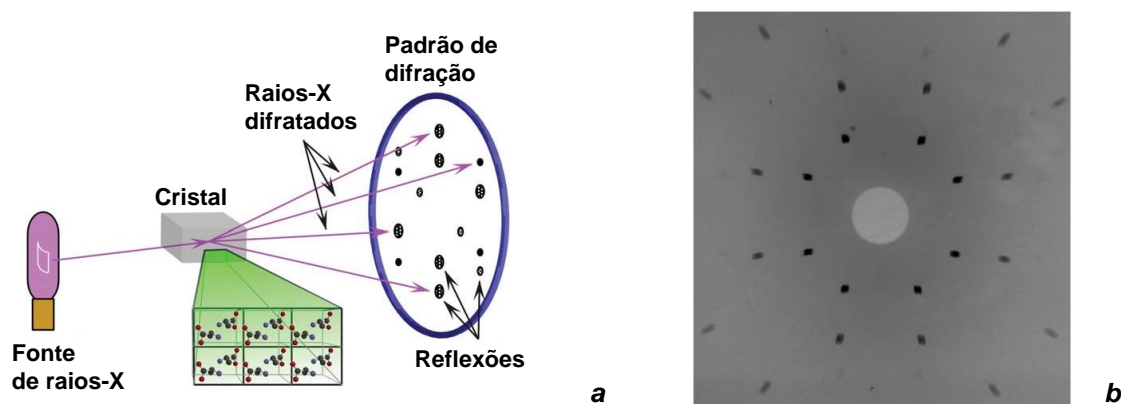
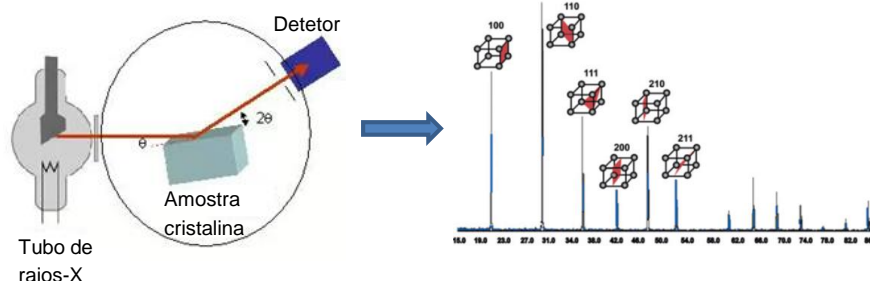


Figura 1.18 a - processo de difração de raios-X em mono cristal;<sup>92</sup> b - padrão de difração do diamante.<sup>90</sup>

### 1.4.4 Difração de raios-X de pó (DRXP)

Por vezes a obtenção de cristais com tamanho e pureza adequados para uma análise por DRXMC pode ser complicada, pois os processos de cristalização nem sempre ocorrem com sucesso. Deste modo, se a amostra estiver disponível sob a forma de pó e possuir um grau de pureza apreciável, é possível avaliar, com recurso à técnica de difração de raios-X de pó (DRXP), não só a cristalinidade da amostra (cristalina ou amorfa), como também determinar se a forma cristalina obtida (polimorfo, co-cristal, sal molecular, solvato) é nova. Para a indústria farmacêutica esta técnica tem-se revelado de grande importância, nomeadamente no que diz respeito ao rastreio polimórfico.<sup>32, 85</sup>

De uma forma generalista, a técnica de DRXP consiste na utilização de um feixe de raios-X, proveniente de um tubo de raios-X, que incide sobre uma amostra em pó sendo subsequentemente medida a difração de raios-X por um detector. A amostra roda  $\theta$  em relação à fonte de raios-X e o detector roda  $2\theta$  em relação à amostra (Figura 1.19).<sup>93, 94</sup>



**Figura 1.19** Processo de difração de raios-X em pó e obtenção de um difratograma de pós.

Os diferentes parâmetros de rede das diferentes formas cristalinas geram picos distintos e em posições também elas distintas. Ademais, difratogramas como uma boa resolução permitem uma análise quantitativa da forma cristalina, uma vez que esta técnica se baseia no princípio de que a intensidade integrada de um pico de difração é proporcional à quantidade da forma cristalina presente.<sup>85, 94</sup>

Esta técnica é frequentemente usada para seguir as reações supramoleculares, com a vantagem de não exigir a formação de monocristais. Tanto os pós resultantes das sínteses por mecanoquímica como os produtos obtidos por solução podem ser analisados por esta técnica, embora no caso dos produtos obtidos por solução seja necessário efetuar a moagem da amostra de forma a reduzir e uniformizar o tamanho das cristalites, diminuindo as orientações preferenciais. Este processo de moagem pode ser visto como uma desvantagem quando se usam formas metaestáveis que podem amorfizar ou mudar de fase devido a este processo.<sup>94</sup>

Um padrão de DRXP nem sempre indica se uma nova forma sólida cristalina foi formada, sendo necessário compará-la a padrões de formas conhecidas do PFA e co-cristalizante utilizados na síntese.

A determinação da estrutura cristalina a partir de padrões de DRXP é possível, mas pode ser um processo complicado devido a vários fatores. No entanto, dados de difração obtidos em sincrotrão têm-se revelado bastante úteis para a indústria farmacêutica uma vez que permitem, determinar a estrutura química das novas formas cristalinas de fármacos a partir de pós.<sup>90</sup>

De salientar ainda que se ao DRXP for acoplado um sistema que permita variar a temperatura, é possível estudar de forma inequívoca e bastante precisa, transições de fase das formas sólidas cristalinas induzidas pela temperatura.

## **1.5 Outras técnicas de caracterização das formas sólidas cristalinas**

A informação obtida a partir da combinação de várias técnicas de caracterização estrutural e térmica é frequentemente requerida de modo a identificar a estrutura cristalina obtida após síntese e determinar as suas propriedades físicas e químicas.<sup>96</sup>

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear em estado sólido (RMN em estado sólido) que, em muitos aspetos, complementa a técnica mais poderosa na determinação estrutural, a cristalografia de raios-X anteriormente explicitada, tem-se tornado numa ferramenta indispensável para a caracterização da estrutura e dinâmica em materiais moleculares.<sup>97</sup> Esta técnica não destrutiva tem a capacidade única de sondar os ambientes eletrónicos e a conectividade dipolar dos núcleos ativos por ressonância magnética nuclear (RMN) (por exemplo,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{23}\text{Na}$  e  $^1\text{H}$ ), durante uma escala de tempo alargada, não necessitando de substratos monocristalinos ou amostras homogêneas.<sup>96, 98</sup> O RMN em estado sólido não só é bastante útil na identificação de formas sólidas (polimorfos, solvatos, sais e co-cristais), como também fornece informação detalhada sobre as propriedades dessas formas, em termos de estrutura molecular e cristalina, complementando os resultados obtidos por DRXMC e DRXP.<sup>97, 99-101</sup> Este tipo de espectroscopia permite, também, estudar formas sólidas amorfas de PFAs. Técnicas avançadas a duas dimensões como a correlação heteronuclear de carbono e hidrogénio com polarização cruzada ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  CP-HETCOR) permite retirar informação relativamente às interações intermoleculares estabelecidas entre os dois componentes que constituem a forma sólida em estudo.<sup>102</sup> Além disso, a identificação dos sais moleculares e co-cristais pode ser realizada com recurso a  $^{13}\text{C}$  CPMAS e 1D  $^1\text{H}$  DUMBO MAS, uma vez que fornece informação sobre os desvios químicos encontrados, relacionando-os com o ambiente químico existente.<sup>103, 104</sup>

O RMN em solução pode fornecer uma variedade de informação relativamente às formas sólidas. Em muitos casos, o RMN do núcleo de protão ( $^1\text{H}$ -RMN) pode revelar se existe formação de um sal, mesmo que o contra-íão não seja diretamente observado. Os desvios químicos dos prótons próximos dos heteroátomos que se encontram carregados alterar-se-ão comparativamente com os desvios químicos desses prótons observados nas espécies neutras.<sup>96</sup> Adicionalmente, também é possível retirar informação sobre a estequiometria presente, através da integração dos sinais de RMN, bem como o grau de pureza da amostra, verificado pela ausência ou presença de sinais vestigiais e/ou alargamento dos sinais característicos dos componentes da amostra.

A espectroscopia de infravermelho (IV) também pode ser usada para determinar a formação de um sal. Os desvios das bandas do carbonilo indicam a formação do sal, mas também podem indicar uma diferente forma cristalina, sendo necessário o recurso a padrões que nos permitam retirar conclusões corretas dos resultados observados. A protonação de heteroátomos como o azoto (por exemplo  $\text{NH}_2^+$ ) também é detetada pela presença de bandas

caraterísticas. Contudo, esta técnica torna-se mais limitativa no que diz respeito à identificação de interações existentes entre um PFA e um co-cristalizante num co-cristal.<sup>48, 96</sup>

A calorimetria diferencial de varrimento (CDV) é uma técnica que permite determinar parâmetros relacionados com a estabilidade físico-química de amostras sólidas (por exemplo polimorfos, sais moleculares, co-cristais e solvatos), como ponto de fusão, capacidade calorífica, calor de fusão e transições de fase.<sup>48, 96</sup>

A análise termogravimétrica (ATG), conjuntamente com a análise obtida pelo CDV, permite detetar, de forma eficiente, a libertação de determinado componente (solvente ou co-cristalizante) de uma estrutura cristalina, bem como a decomposição da amostra, que normalmente é acompanhada por libertação de produtos voláteis.<sup>3, 48</sup>

A termomicroscopia é um método bastante utilizado no estudo de transições de fase em sólidos. Variando a temperatura de uma amostra e acompanhando o processo através de um microscópio, com recurso a luz polarizada, é possível obter informação sobre o seu comportamento durante os processos de fusão e recristalização, assim como detetar transformações de estado sólido (por exemplo mudanças de fase e perda de solvente).<sup>3, 48</sup>

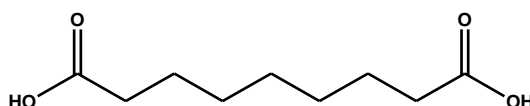
**Capítulo 2. Novas formas cristalinas do ácido  
azelaico – Caracterização estrutural e estudos  
de estabilidade térmica e solubilidade**



## 2.1 Introdução

O ácido azelaico ((CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>(CO<sub>2</sub>H)<sub>2</sub>), ou ácido 1,7-heptanodicarboxílico, é um composto orgânico dicarboxílico saturado com nove átomos de carbono (Figura 2.1), obtido a partir de processos de oxidação do ácido oleico e de ácidos gordos esterificados.<sup>105</sup> É geralmente utilizado no tratamento de acne e outros problemas de pele associados à hiperpigmentação, como a rosácea, causando a apoptose das bactérias responsáveis pelo aparecimento destes problemas de pele.<sup>105, 106</sup> Para além disso, contribui para a diminuição dos níveis de queratina, substância natural que promove o crescimento da bactéria responsável pelo desenvolvimento do acne.<sup>105</sup> Recentemente tem sido corroborada a possibilidade de utilizar o ácido azelaico no tratamento e prevenção de cancro da pele e da próstata, devido ao seu elevado potencial de inibição dos níveis da proteína 5- $\alpha$  reductase presente em doentes com esta patologia.<sup>105</sup> Este PFA é utilizado na formulação de cremes, numa concentração de 20% (Azelex, AzClear Action e Finevin), e de géis numa concentração de 15% (Finacea).<sup>107</sup> O ácido azelaico possui um ponto de fusão entre os 109-111°C, dois pKa de 4,55 e 5,50 e apresenta algumas limitações relativamente à solubilidade, o que constitui um problema na sua aplicação dermatológica,<sup>105</sup> sendo apenas possível obter uma quantidade máxima de 0,24% em soluções aquosas, tornando-o pouco efetivo. Por outro lado, apesar dos álcoois, que fazem parte da formulação dos cremes e géis, constituírem uma boa alternativa enquanto solventes, estes podem apresentar alguns efeitos adversos na camada lipídica da pele quando usados em doses elevadas, especialmente no que diz respeito a problemas de hidratação (pele seca). Adicionalmente, e fora do contexto dermatológico, são conhecidos outros problemas relacionados com a estabilidade deste PFA à temperatura ambiente na presença destes solventes, nomeadamente do álcool etílico, o que representa uma barreira na formulação deste princípio ativo.<sup>105, 107</sup>

No que diz respeito à biodisponibilidade, sabe-se que o ácido azelaico presente nos cremes e géis não é absorvido pela pele de forma muito efetiva. Nesse sentido, foram alternativamente desenvolvidas formas de melhorar o poder de penetração na pele, utilizando microemulsões de ácido poliacrílico, em que as concentrações de ácido azelaico eram incrementadas. Contudo, e tendo em consideração que a formulação das microemulsões é realizada à base de álcoois, este método torna-se relativamente limitado pelos efeitos adversos que apresentam.<sup>105, 107, 108</sup>



**Figura 2.1** Estrutura química do ácido azelaico.

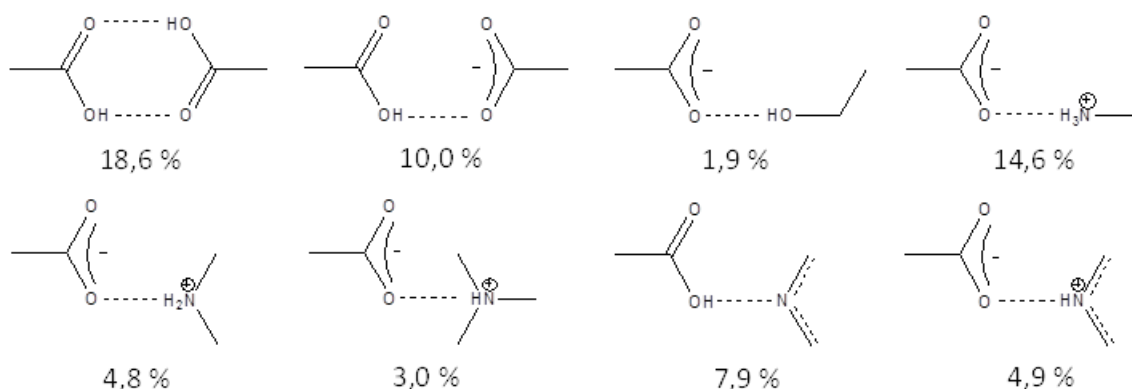
Melhorar a solubilidade do ácido azelaico, especialmente em água, através da síntese de novas formas sólidas cristalinas, torna-se assim numa alternativa mais viável, uma vez que

não se interfere com a atividade biológica do PFA, pois não existe alteração da estrutura química. Outra vantagem reside no facto de se poder prescindir de emulsionantes e álcoois para melhorar a solubilidade.

O ácido azelaico possui dois polimorfos designados por formas  $\alpha$  e  $\beta$ .<sup>109, 110</sup> A forma  $\alpha$ , que corresponde ao polimorfo metastável monoclinico, cristaliza no grupo espacial P21/c<sup>109</sup>, enquanto a forma  $\beta$ , que cristaliza num sistema monoclinico com o grupo espacial C2/c, corresponde ao polimorfo termodinamicamente estável que é aplicado em formulações farmacêuticas.<sup>109, 110</sup> O empacotamento de ambas as estruturas polimórficas é baseado em interações do tipo  $\text{O}-\text{H}_{\text{COOH}}\cdots\text{O}_{\text{COOH}}$ , em que o grupo hidroxilo funciona como doador e o oxigénio do grupo carbonilo como aceitador, formando o homosintão  $R_2^2(8)$ .

Para além dos dois polimorfos descritos, várias formas cristalinas multicomponentes do ácido azelaico com diferentes aminas e amidas foram reportadas, nomeadamente co-cristais com a isonicotinamida,<sup>111</sup> nicotinamida,<sup>112</sup> *N*-(piridin-2-ilo)isonicotinamida,<sup>113</sup> *N*-(piridin-2-ilo)nicotinamida,<sup>113</sup> bis(*N*-(2-piridilo)acetamida),<sup>114</sup> 2-metilimidazólio,<sup>115</sup> 2-piridona,<sup>116</sup> 1,4-diazobisciclo[2.2.2]octano (DABCO)<sup>117</sup> e 4,4'-etano-1,2-diilodipiridona<sup>118</sup>. O empacotamento destas estruturas é baseado, predominantemente, em interações do tipo  $\text{N}-\text{H}\cdots\text{O}$ ,  $\text{O}-\text{H}\cdots\text{N}$  e  $\text{O}-\text{H}_{\text{COOH}}\cdots\text{O}_{\text{CONH}_2}$ , formando o heterosintão  $R_2^2(8)$ . De salientar que todas estas interações presentes nas formas cristalinas acima referenciadas conduzem à quebra do homosintão  $R_2^2(8)$  formado entre os grupos carboxílicos do ácido azelaico.

Segundo uma pesquisa na CSD,<sup>26</sup> considerando um universo de 13024 compostos com os fragmentos carboxílico e/ou carboxilato, que podem estar presentes em estruturas cristalinas do ácido azelaico e considerando, apenas, co-cristalizantes orgânicos com os grupos funcionais hidroxilo, amida, éter, amina e ácido carboxílico que podem ou não encontrar-se na forma ionizada, as interações mais prováveis de ocorrer são  $\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}$ ,  $\text{N}-\text{H}\cdots\text{O}$  e  $\text{O}-\text{H}\cdots\text{N}$ , como ilustrado na Figura 2.2.



**Figura 2.2** Representação dos sintões mais comuns de se formarem para o ácido azelaico.

Tendo em consideração os estudos anteriormente reportados e a importância do grupo NH nos rearranjos supramoleculares, pretende-se com este trabalho não só explorar a



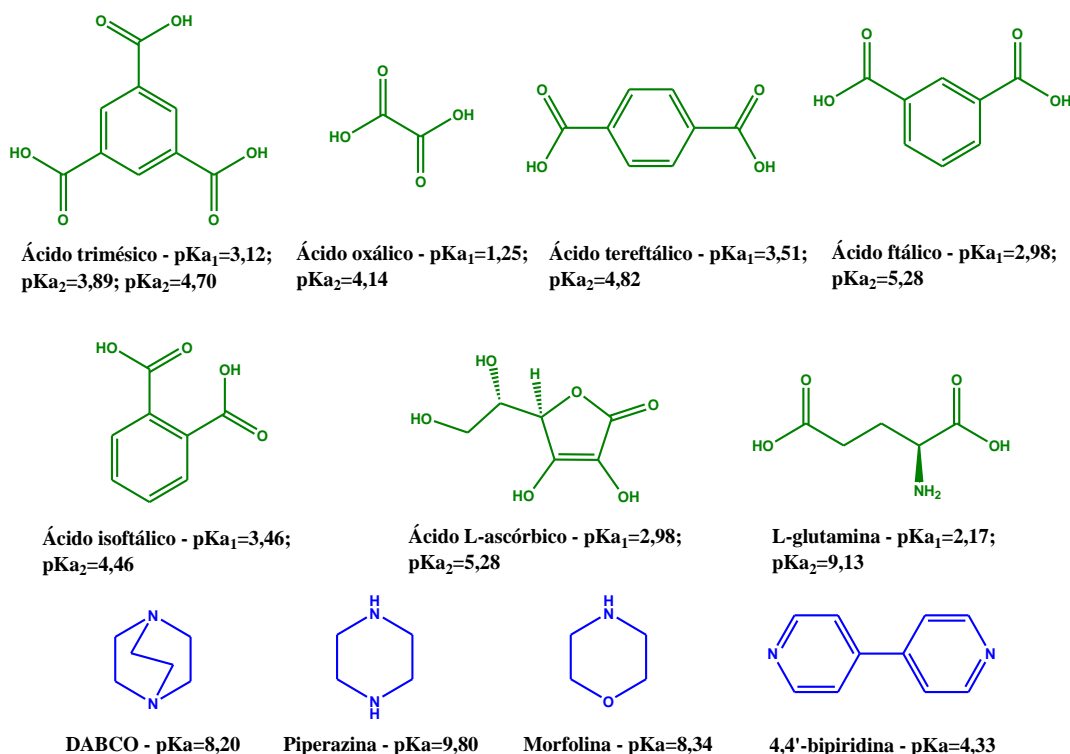
reatividade deste PFA, sintetizando e caracterizando novas formas cristalinas sólidas com recurso a co-cristalizantes com diferentes grupos amina (primária, secundária, terciária e aromática), mas também melhorar as propriedades físico-químicas (nomeadamente a solubilidade) de modo a que seja possível, num futuro, utilizar co-cristalizantes geralmente reconhecidos como seguros (definição atribuída pela *Food and Drug Administration* (FDA)) para a síntese de novas formas com potencial aplicação farmacológica.

## 2.2 Parte experimental

### 2.2.1 Síntese

Todos os reagentes e solventes foram adquiridos à Sigma-Aldrich e utilizados no processo de síntese sem qualquer purificação adicional.

Na Figura 2.3 encontra-se representada uma lista dos co-cristalizantes testados, e respetivos valores de pKa, com vista a sintetizar novas formas cristalinas sólidas do ácido azelaico.



**Figura 2.3** Lista de compostos utilizados para a síntese de novas formas cristalinas com o ácido azelaico:  
A verde – co-cristalizantes que não reagiram; a azul – co-cristalizantes que reagiram.

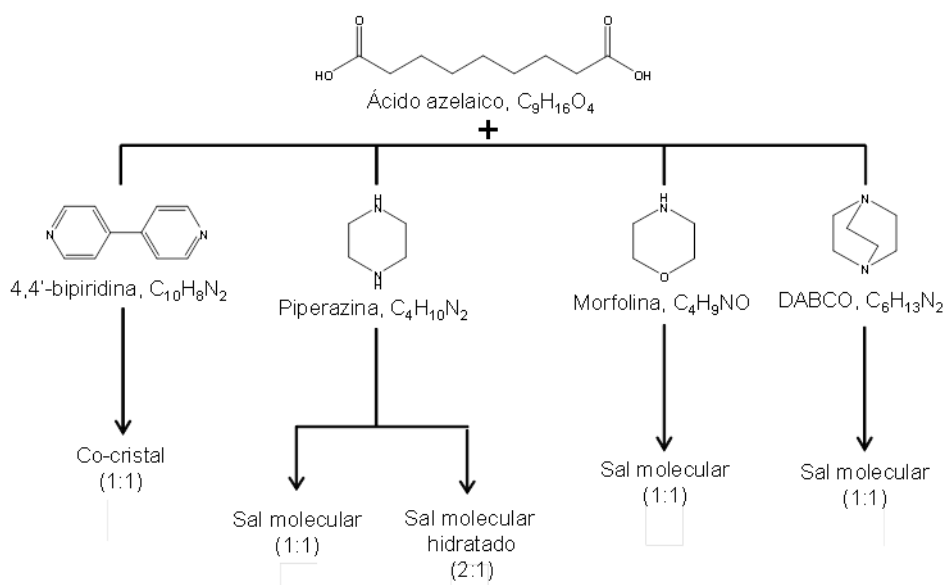
A técnica de síntese aplicada em todos os testes de reatividade foi a co-cristalização em solução, sendo que a técnica de moagem assistida por solvente (no almofariz e no moinho de bolas) foi aplicada aos co-cristalizantes que revelaram possuir boa reatividade em solução

com o PFA em estudo. De salientar que esta metodologia sintética baseada na moagem não só complementa a técnica de síntese por solução, mas também verifica a reprodutibilidade da síntese por diferentes métodos. Na tabela 2.1 encontram-se apresentadas as condições experimentais aplicadas aos co-cristalizantes e ácido azelaico cujas reações não foram bem-sucedidas.

**Tabela 2.1** Condições experimentais aplicadas ao ácido azelaico e co-cristalizantes testados.

Co-cristalizante	Solvente	V (mL)	Quantidade e concentração de co-cristalizante (mg (mmol))	Quantidade e concentração de ácido azelaico (mg (mmol))	Tempo de agitação (min)	Aquecimento (45°C)
Ácido trimésico	Etanol	2	66,6 (0,3169)	58,2 (0,3092)	10	Não
Ácido oxálico	Etanol+água+acetona	2+8+2	67,7 (0,7520)	83,4 (0,4431)	10	Sim
Ácido tereftálico	Etanol	2	73,7 (0,4436)	73,3 (0,3895)	10	Não
Ácido ftálico	Etanol	2	55,5 (0,3341)	63,5 (0,3374)	10	Não
Ácido isoftálico	Etanol	2	55,8 (0,3359)	61,0 (0,3241)	10	Não
Ácido L-ascórbico	Etanol+água	2+2	53,0 (0,3009)	65,0 (0,3454)	10	Sim
L-glutamina	Etanol+água+acetona	4+7+2	52,4 (0,3586)	74,6 (0,3964)	10	Sim

Para as sínteses que ocorreram com sucesso as condições experimentais utilizadas serão seguidamente descritas, em detalhe. Na Figura 2.4 encontram-se representados os produtos finais obtidos e respetivas estequiometrias.



**Figura 2.4** Representação dos produtos finais obtidos e respetivas estequiometrias, a partir da reação do ácido azelaico com os co-cristalizantes 4,4'-bipiridina, piperazina, morfolina e DABCO.

### **Síntese do co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina**

Solução etanol: Ácido azelaico (66,1 mg; 0,3512 mmol) e 4,4'-bipiridina (56,2 mg; 0,3598 mmol) foram dissolvidos em 3 mL de etanol. A solução permaneceu em agitação durante 10 min a 45°C e, após dissolução completa dos dois componentes, foi deixada a cristalizar à temperatura ambiente (aproximadamente 25°C) por evaporação lenta do solvente num cristalizador tapado com *parafilm* furado. Após dois dias, formaram-se cristais incolores em forma de agulha.

Moagem assistida por solvente - etanol: Procedeu-se à moagem da mistura ácido azelaico (162,1 mg; 0,8607 mmol) e 4,4'-bipiridina (135,0 mg; 0,8644 mmol), em 50 µL de etanol, num moinho de bolas durante 15 min a 29,8 Hz de frequência de agitação. Num almofariz, procedeu-se à junção de 217,2 mg (1,1501 mmol) de ácido azelaico com 188,0 mg (1,2037 mmol) de 4,4'-bipiridina e respetiva moagem, durante 60 min. Foram adicionados, gradualmente, 90 µL de etanol de modo a promover a reação.

### **Síntese do sal molecular anidro e hidratado azelaico:piperazina**

Solução etanol:água: Foram dissolvidos numa mistura de etanol:água (4:1), 85,0 mg (0,4516 mmol) de ácido azelaico e 38,1 mg (0,4423 mmol) de piperazina. A solução permaneceu em agitação durante 10 min e à temperatura ambiente (aproximadamente 25°C). Após dissolução completa dos reagentes, tapou-se o cristalizador com *parafilm* furado e deixou-se a cristalizar à temperatura ambiente por evaporação lenta do solvente, observando-se, após três dias de evaporação, a formação de cristais incolores em forma de agulhas (sal molecular anidro) e placas (sal molecular hidratado).

Solução aquosa: Com o objetivo de obter mais quantidade do sal molecular hidratado e averiguar a estabilidade desta forma, procedeu-se à dissolução de 82,6 mg (0,4388 mmol) de ácido azelaico e 39,3 mg (0,4562 mmol) de piperazina em 4 mL de água. Após dissolução completa à temperatura ambiente (aproximadamente 18°C) e durante 10 min de agitação, a solução permaneceu em repouso, selada com *parafilm* furado para evaporação lenta do solvente. A formação de cristais incolores sob a forma de placas foi detetada após um dia de evaporação.

Moagem assistida por solvente - etanol: Procedeu-se à moagem da mistura ácido azelaico (205,9 mg; 1,0939 mmol) e piperazina (94,2 mg; 1,0935 mmol), em 50 µL de etanol, num moinho de bolas (15 min, 29,8 Hz). Os mesmos reagentes (274,7 mg; 1,4595 mmol de ácido azelaico e 124,9 mg; 1,4499 mmol de piperazina) foram moídos num almofariz, durante 65 min, com recurso a 150 µL de etanol, adicionados de forma gradual. Os produtos obtidos pelos dois métodos foram analisados por DRXP, confirmando-se o produto obtido por solução.

Moagem assistida por solvente - água: Procedeu-se à moagem de 82,4 mg (0,4388 mmol) de ácido azelaico e 39,1 mg (0,4539 mmol) de piperazina em 40 µL de água, num moinho de ágata, durante 5 minutos e após evaporação do excesso de água presente. O produto obtido foi analisado por DRXP verificando-se a formação da forma anidra.

#### **Síntese do sal molecular anidro azelaico:morfolina**

Solução: 185,4 mg (0,9850 mmol) de ácido azelaico foram dissolvidos em 4 mL de morfolina. A solução permaneceu sob agitação durante 10 min e à temperatura ambiente (aproximadamente 25°C), de modo a garantir a dissolução completa. Após dissolução, interrompeu-se a agitação e selou-se a solução com *parafilm* furado deixando a cristalizar por evaporação lenta do solvente à temperatura ambiente. A formação de cristais de cor laranja, e em forma de agulhas, foi detetada após três dias.

Moagem assistida por solvente: 203,8 mg (1,0828 mmol) de ácido azelaico e 25 µL (0,2857 mmol) de morfolina foram moídos num moinho de bolas durante 15 min a 29,8 Hz. Utilizando um almofariz de ágata, procedeu-se à junção de 273,1 mg (1,4510 mmol) de ácido azelaico e 75 µL (0,8571 mmol) de morfolina moendo-se, posteriormente, durante 30 min.

#### **Síntese do sal molecular anidro azelaico:DABCO**

Solução etanol: Foram dissolvidos em 2 mL de etanol, 76,0 mg (0,4038 mmol) de ácido azelaico e 46,1 mg (0,4110 mmol) de DABCO. De modo a garantir uma dissolução completa, a solução permaneceu sob agitação durante 10 min à temperatura ambiente (aproximadamente 23°C). Posteriormente foi tapada com *parafilm* furado, permanecendo a cristalizar por evaporação lenta do solvente, à temperatura ambiente e sem agitação. Após dois dias, foi possível detetar a formação cristais incolores com forma paralelepípedica.

Moagem assistida por solvente - etanol: Procedeu-se à moagem de 187,1 mg (0,9941 mmol) de ácido azelaico e 114,2 mg (1,0181 mmol) de DABCO em 50 µL de etanol, num moinho de bolas durante 15 min a 29,8 Hz. Num almofariz, foram introduzidos 257,0 mg (1,3654 mmol) de ácido azelaico e 150,1 mg (0,1381 mmol) de DABCO moendo-se, posteriormente, durante 45 min e na presença de 40 µL de água. O tempo de moagem não foi contínuo, uma vez que a amostra absorveu muita água, impossibilitando a sua moagem (aspeto físico líquido). Foi necessário deixar evaporar alguma quantidade de água durante duas semanas.

## **2.2.2 Estudos de estabilidade**

### ***Suspensões em agitação***

Uma amostra de 400 mg que continha sal molecular azelaico:DABCO e mistura do sal molecular com o co-cristal, já reportado,<sup>117</sup> foi suspensa numa solução de etanol e agitada, durante 48 horas, num recipiente hermeticamente fechado. A amostra resultante do processo foi analisada por DRXP, verificando-se mistura das duas formas.

### **2.2.3 Detalhes de caracterização**

Todos os produtos obtidos foram analisados por DRXP e DRXMC sempre que possível. A estabilidade térmica foi avaliada por CDV-ATG e por termomicroscopia. Foram também utilizadas como técnicas complementares de caracterização, o RMN de solução e estado sólido e IV.

Os dados de difração de raios-X de monocristal foram sempre recolhidos num difratómetro Bruker APEX II a 150 K. O gerador de raios-X operou a 50 kV e 30 mA e a recolha de dados foi monitorizada pelo programa APEX2. Os dados foram corrigidos para os efeitos de Lorentz, de polarização e de absorção, com recurso aos programas SAINT e SADABS.

Os dados de difração em pó foram recolhidos num difratómetro D8 Advance Bruker AXS  $\theta$ -2 $\theta$ , com radiação em cobre (Cu K $\alpha$ ,  $\lambda$ =1.5406 Å) e um monocromador secundário, operado a 40 Kv e 40 mA.

Os espectros de IV foram obtidos num espectrómetro Nexus-Thermo Nicolet (64 scans e resolução de 4 cm<sup>-1</sup>) numa gama de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>. As amostras foram diluídas em KBr (1:100 em peso).

Os estudos de RMN de estado sólido foram realizados pelo Doutor Luís Mafra, no laboratório associado CICECO da Universidade de Aveiro. As medidas de ATG e CDV foram realizadas numa termobalança SETARAM TG-DTA 92 sob fluxo de ar e com uma velocidade de aquecimento de 10°C·min<sup>-1</sup>. Os pesos das amostras estavam compreendidos entre os 5 e os 10 mg.

As experiências de termomicroscopia foram efetuadas utilizando um aparelho Linkam TP94. As imagens foram recolhidas através do programa de imagem Cell, com um estereomicroscópio Olympus SZX10.

### ***Difração de raios-X de mono cristal (DRXMC)***

À exceção dos átomos de hidrogénio, todos os átomos foram refinados anisotropicamente.

Todos os átomos de hidrogénio foram introduzidos em posições calculadas e deixou-se refinar no carbono respetivo, excetuando os átomos de hidrogénio presentes na amina secundária da piperazina (sal molecular anidro e hidratado) e nas moléculas de água. Estes hidrogénios foram localizados a partir dos respetivos mapas de densidades eletrónicas e

refinados livremente. Os átomos de hidrogénio localizados nas aminas secundárias (no sal molecular hidratado azelaico:piperazina e no sal molecular anidro azelaico:DABCO) foram localizados a partir dos respetivos mapas de densidades eletrónicas e as distâncias N-H foram fixas a 0,9 Å. Em dois oxigénios de um dos grupos carboxilato do sal molecular do ácido azelaico com o DABCO, existe uma desordem devido à existência de um plano de simetria que passa na ligação C–O, tendo-se definido 50% de ocupação para cada oxigénio.

Os dados recolhidos, bem como os detalhes de refinamento das estruturas, encontram-se listados na Tabelas 2.2 e 2.3.

**Tabela 2.2** Detalhes cristalográficos dos compostos: co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina e sais moleculares anidro e hidratado azelaico:piperazina.

	Co-cristal ácido azelaico: 4,4'-bipiridina	Sal molecular anidro azelaico:piperazina	Sal molecular hidratado azelaico:piperazina
Fórmula química	$C_9H_{16}O_4 \cdot C_{10}H_8N_2$	$C_9H_{14}O_4 \cdot C_4H_{12}N_2$	$2(C_9H_{14}O_4) \cdot C_4H_{12}N_2 \cdot 2(H_2O)$
$M_r$	344,40	274,36	498,61
Temperatura/K	150	150	150
Comprimento de onda (Å)	0,71069	0,71069	0,71069
Morfologia, cor	Placas, incolor	Agulhas, incolor	Placas, incolor
Tamanho do cristal/mm	0,42 X 0,02 X 0,01	0,21 X 0,04 X 0,02	0,22 X 0,13 X 0,02
Sistema cristalino	Monoclínico	Monoclínico	Triclínico
Grupo espacial	C2/c	P 2/c	P -1
$a/\text{Å}$	25,395(9)	5,706 (9)	8,024(2)
$b/\text{Å}$	5,0430(17)	9,274(2)	9,472(2)
$c/\text{Å}$	27,771(10)	14,059(3)	17,545(4)
$\alpha/^\circ$	90,00	90,000(0)	96,603(10)
$\beta/^\circ$	96,397(12)	98,052(7)	98,893(7)
$\gamma/^\circ$	90,00	90,000(0)	93,006(8)
$V/\text{Å}^3$	3534,4(2)	736,6(12)	1305,3(5)
$Z$	8	2	2
Densidade/ $\text{mg} \cdot \text{cm}^{-3}$	1,294	1,237	1,269
Coeficiente de absorção/ $\text{mm}^{-1}$	0,091	0,091	0,099
$\theta$ min ( $^\circ$ )	1,50	3,66	1,20
$\theta$ max ( $^\circ$ )	25,70	25,36	25,70
Reflexões recolhidas/únicas	13499/3283	5020/1347	7929/4742
$R_{\text{int}}$	0,1819	0,0689	0,0652
GoF	0,9030	0,9520	0,8680
Limite do desvio padrão das intensidades	$>2\sigma(I)$	$>2\sigma(I)$	$>2\sigma(I)$
$R_1$ (observado)	0,0828	0,0528	0,0727
$w R_2$ (total)	0,2330	0,1389	0,1795

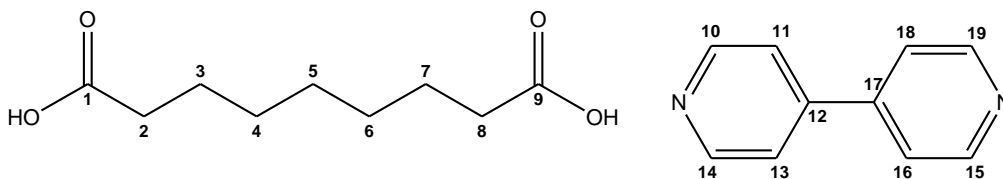
**Tabela 2.3** Detalhes cristalográficos dos compostos: sais moleculares anidros azelaico:morfolina e azelaico:DABCO.

	Sal molecular azelaico:morfolina	Sal molecular azelaico:DABCO
Fórmula química	$C_9H_{15}O_4 \cdot C_9H_{14}O_4 \cdot 2(C_4H_{10}NO)$	$C_9H_{15}O_4 \cdot 0.5(C_6H_{14}N_2)$
$M_r$	549,67	244,3
Temp/K	150	150
Comprimento de onda (Å)	0,71069	0,71069
Morfologia, cor	Placas, laranja	Paralelepípedo, incolor
Tamanho do cristal/mm	0,30 X 0,03 X 0,02	0,33 X 0,05 X 0,05
Sistema cristalino	Triclínico	Ortorrômbico
Grupo espacial	P -1	Pnma
a/Å	5,4748(13)	10,3635(18)
b/Å	11,396(3)	7,6322(18)
c/Å	24,021(6)	33,6490(61)
$\alpha/^\circ$	102,828(9)	90,0000(0)
$\beta/^\circ$	93,084(10)	90,0000(0)
$\gamma/^\circ$	99,583(10)	90,0000(0)
$V/\text{Å}^3$	1434,4(6)	2661,51(9)
Z	2	8
Densidade/ $\text{mg} \cdot \text{cm}^{-3}$	1,270	1,220
Coefficiente de absorção/ $\text{mm}^{-1}$	0,097	0,091
$\theta$ min ( $^\circ$ )	0,90	1,20
$\theta$ max ( $^\circ$ )	25,4	25,4
Reflexões recolhidas/únicas	9864/5182	9577/2629
$R_{\text{int}}$	0,0451	0,1082
GoF	0,9870	0,8930
Limite do desvio padrão das intensidades	$>2\sigma(I)$	$>2\sigma(I)$
$R_1$ (observado)	0,0565	0,0946
$w R_2$ (total)	0,1711	0,2874

### Ressonância magnética nuclear de solução (RMN)

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de próton ( $^1\text{H}$ -RMN) foram adquiridos num espectrômetro de modelo Advance Plus III 500, operando a 500 MHz. Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de carbono 13 ( $^{13}\text{C}$ -RMN) foram obtidos no mesmo aparelho, operando a 125,77 MHz. A elucidação estrutural de todos os compostos sintetizados foi efetuada com base na análise dos resultados obtidos nas experiências bidimensionais. As experiências de *Heteronuclear Single Quantum Coherence* (HSQC), *Heteronuclear Multiple Bond Correlation* (HMBC) e *Homonuclear Correlation Spectroscopy* (COSY) foram efetuadas usando os programas de pulso *standard* da Bruker.

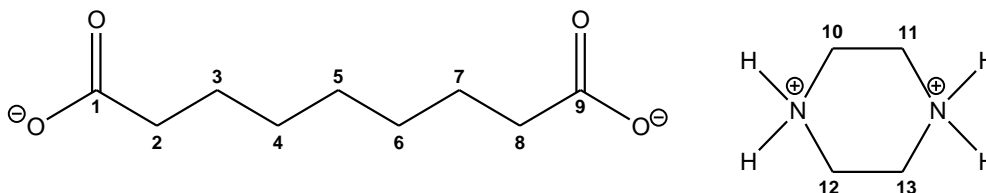
Co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina



**<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ ppm:** 8,76-8,75 (4H, *m*, H10+H14+H15+H19), 7,56-7,55 (4H, *m*, H11+H13+H16+H18), 2,36 (4H, *t*, *J*=4,8 Hz, H2+H8), 1,67-1,64 (4H, *m*, H3+H7), 1,36 (6H, *s*, H4+H5+H6).

**<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ ppm:** 178,2 (C1+C9), 150,5 (C10+C14+C15+C19), 145,6 (C12+C17), 11,5 (C11+C13+C16+C18), 33,9 (C2+C8), 28,8 (C5), 28,7 (C4+C6), 24,7 (C3+C7).

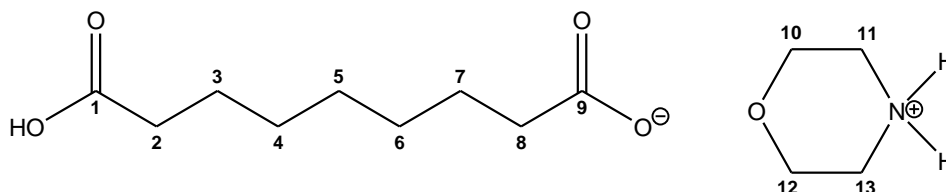
Sal molecular anidro azelaico:piperazina



**<sup>1</sup>H-RMN (D<sub>2</sub>O) δ ppm:** 3,30 (8H, *s*, H10+H11+H12+H13), 2,07-2,06 (4H, *m*, H2+H8), 1,40 (4H, *s*, H3+H7), 1,17 (6H, *m*, H4+H5+H6).

**<sup>13</sup>C-RMN (D<sub>2</sub>O) δ ppm:** 187,8 (C1+C9), 41,1 (C10+C11+C12+C13), 37,2 (C2+C8), 28,7 (C4+C6), 28,4 (C5), 25,8 (C3+C7).

Sal molecular anidro azelaico:morfolina



**<sup>1</sup>H-RMN (D<sub>2</sub>O) δ ppm:** 3,34 (4H, *t*, *J*=4,8 Hz, H10+H12), 3,19 (4H, *t*, *J*=4,8 Hz, H11+H13), 2,15 (4H, *t*, *J*=4,8 Hz, H2+H8), 1,47-1,44 (4H, *m*, H3+H7), 1,20 (6H, *s*, H4+H5+H6).

**<sup>13</sup>C-RMN (D<sub>2</sub>O) δ ppm:** 182,2 (C1+C9), 63,5 (C10+C12), 43,1 (C11+C13), 36,0 (C2+C8), 28,3 (C4+C6), 28,1 (C5), 25,1 (C3+C7).

**Estudos de solubilidade em solução aquosa**

Procedeu-se ao estudo preliminar de solubilidade através da dissolução de 10 mg, de cada forma cristalina, em água que foi adicionada de forma gradual até dissolução completa. A medição da adição gradual de água permitiu determinar valores empíricos de solubilidade.



## 2.3 Apresentação e discussão de resultados

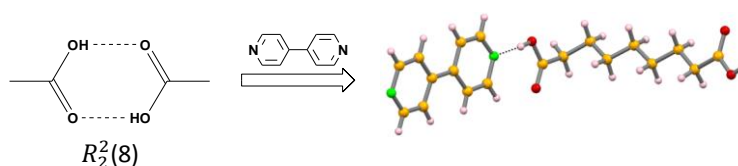
Neste subcapítulo serão apresentados e discutidos os resultados experimentais obtidos para as novas formas cristalinas sintetizadas. Para a determinação da pureza das amostras, foram sempre comparados os difratogramas experimentalmente obtidos por DRXP com os teoricamente calculados a partir do monocristal. Os resultados obtidos por RMN de solução também permitiram retirar conclusões relativamente ao grau de pureza das amostras cristalinas assim como confirmar a estequiometria do produto. O RMN de estado sólido e IV apresentam-se, aqui como técnicas complementares de caracterização. A caracterização térmica por CDV-ATG e termomicroscopia é discutida, bem como os resultados dos estudos preliminares de solubilidade.

Os detalhes sobre as distâncias de ligação e ângulos obtidos a partir da DRXMC serão apresentados na Tabela 2.4 (fim da seção da caracterização estrutural).

### 2.3.1 Caracterização estrutural

#### 2.3.1.1 Caracterização estrutural do co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina

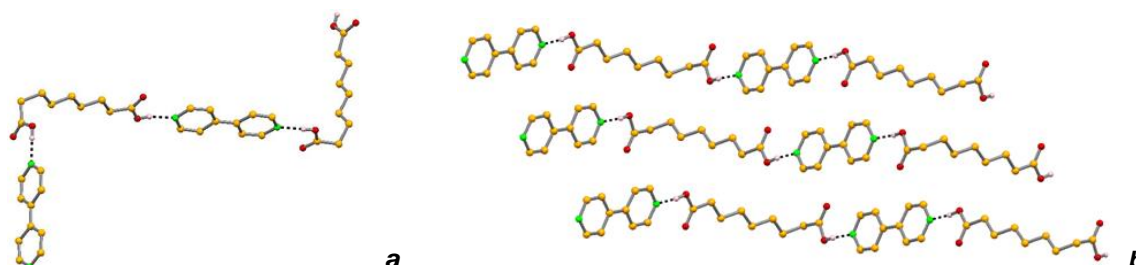
Da reação supramolecular do ácido azelaico com a 4,4'-bipiridina resulta um co-cristal, uma vez que não existe transferência de protão entre as duas espécies. Esta observação é fortemente suportada pela existência de distâncias C-O [1,307(6) e 1,327(6) Å] típicas de grupos carboxílicos que não sofreram desprotonação, e pela localização dos protões nos átomos de oxigénio do mesmo grupo. Este co-cristal cristaliza no grupo espacial monoclinico C2/c, com uma molécula de cada componente na unidade assimétrica (estequiometria 1:1). O empacotamento cristalino é baseado em interações O-H<sub>COOH</sub>...N, responsáveis pela rutura do homosintão típico de ácidos carboxílicos,  $R_2^2(8)$  existente no ácido azelaico (Figura 2.5).



**Figura 2.5** Representação pictórica da quebra do homosintão  $R_2^2(8)$  com formação do co-cristal cuja unidade assimétrica é composta por uma molécula de 4,4'-bipiridina e uma molécula de ácido azelaico.

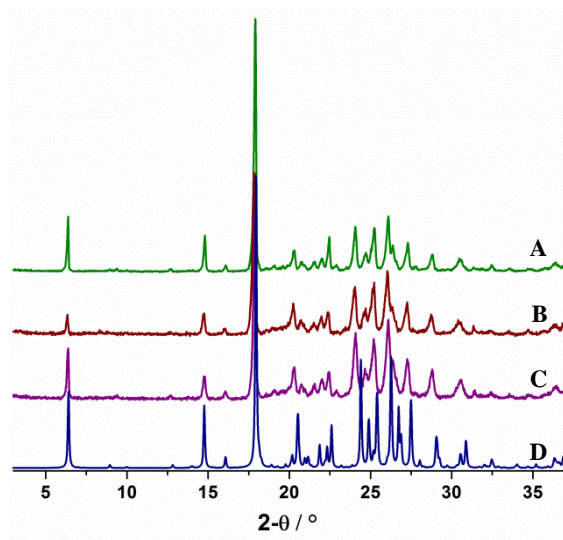
A quebra deste tipo de sintão é bastante comum e ocorre proeminentemente quando a nova forma cristalina sintetizada (co-cristal, sal molecular, solvato) forma sintões mais estáveis que advém, na maioria das vezes, da existência de vários tipos de grupos funcionais. As interações formadas entre o átomo de azoto da 4,4'-bipiridina (aceitador) e o átomo de hidrogénio (doador) dos grupos carboxílicos do ácido azelaico possuem uma distância de interação curta [1,81 e 1,83 Å] comparativamente à observada para o homosintão  $R_2^2(8)$  do

ácido azelaico [2,09 Å] (polimorfo  $\beta$ ). O empacotamento da estrutura leva à formação de cadeias em zig-zag que resultam da existência de um ângulo de torção de  $6,40(5)^\circ$  na estrutura do ácido azelaico (Figura 2.6a). Cada cadeia possui na sua composição moléculas de ácido azelaico e 4,4'-bipiridina dispostas alternadamente (Figura 2.6b).



**Figura 2.6** Diagramas de empacotamento para o co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina: **a** – vista segundo  $a$  evidenciando a cadeia em zig-zag composta alternadamente por moléculas de ácido azelaico e 4,4'-bipiridina; **b** – vista segundo  $b$  evidenciando as interações  $O-H_{COOH} \cdots N$  estabelecidas entre as duas moléculas, bem como o empacotamento da estrutura onde se observam cadeias em zig-zag independentes.

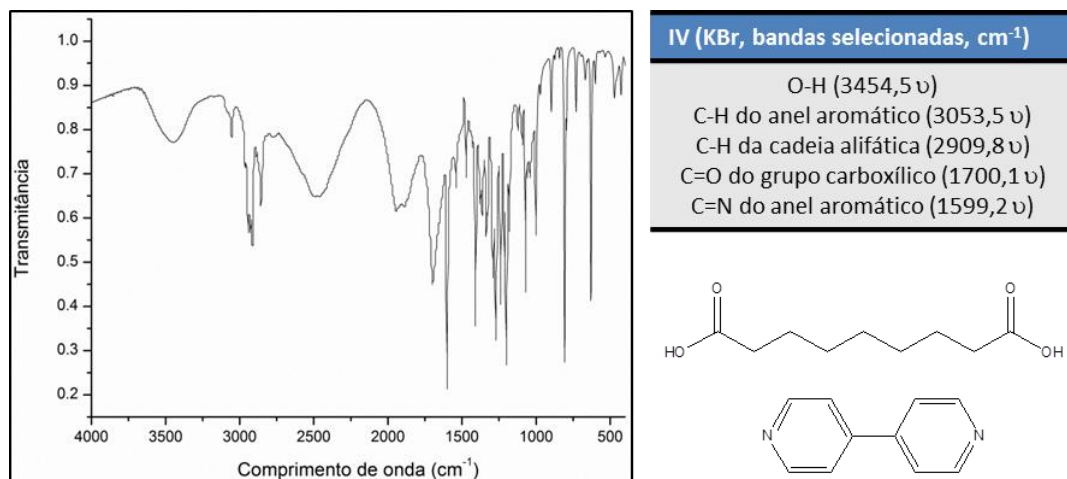
A síntese deste co-cristal foi efetuada utilizando co-cristalização em solução e moagem assistida por solvente (manual e moinho de bolas), obtendo-se sempre o mesmo produto como comprovado por DRXP (Figura 2.7). A comparação destes difratogramas com o teoricamente calculado a partir do monocristal mostra uma total correspondência dos difratogramas, indicando o elevado rendimento da reação e pureza da amostra.



**Figura 2.7** Difratogramas experimentais de DRXP para o co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina obtidos a partir de: **A** – solução; **B** - moagem assistida por solvente num almofariz; **C** - moagem assistida por solvente num moinho de bolas; sobrepostos com **D** - difratograma teoricamente obtido a partir do monocristal.

Através da análise do espectro de IV representado na Figura 2.8, é possível identificar as bandas características das duas espécies que constituem o co-cristal. A existência de apenas

uma banda do grupo carbonilo do ácido carboxílico permite inferir que não ocorreu desprotonação deste grupo, permitindo confirmar os resultados obtidos por DRXMC. Além disso, a inexistência da banda característica de aminas terciárias protonadas (entre 2300 e 2700  $\text{cm}^{-1}$ )<sup>119</sup> reforça as conclusões anteriormente explicitadas.

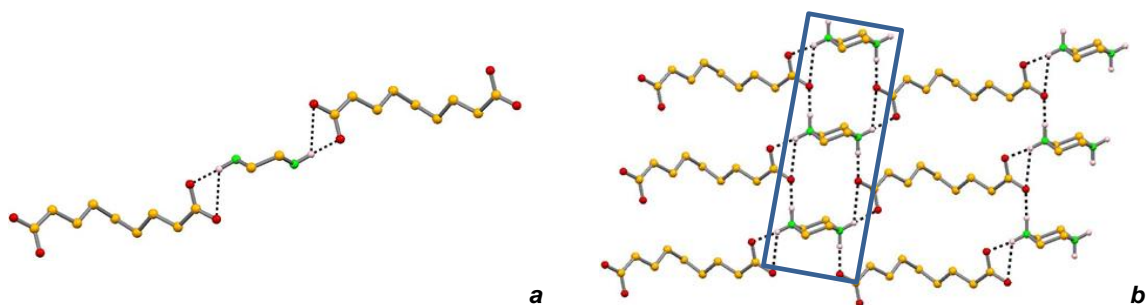


**Figura 2.8** Espectro de IV do co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina, com respetiva atribuição das bandas típicas dos grupos funcionais presentes em cada molécula.

### 2.3.1.2 Caraterização estrutural do sal molecular anidro azelaico:piperazina

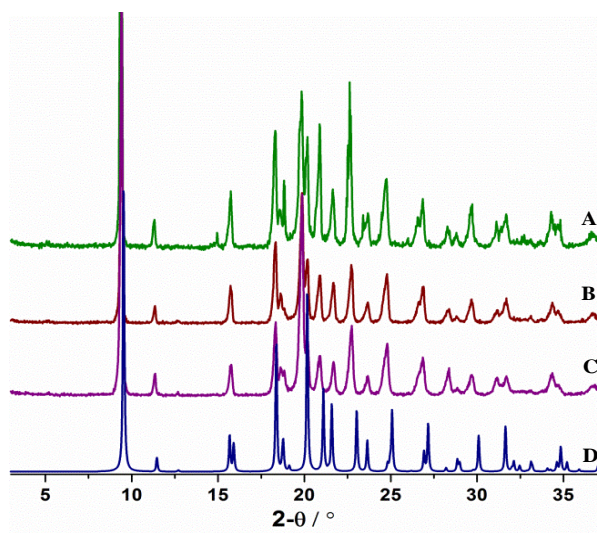
O produto resultante da reação do ácido azelaico com a piperazina é um sal molecular anidro, uma vez que as distâncias C-O [1,257(3) e 1,269(3) Å] apresentam valores típicos de carboxilatos e os átomos de hidrogénio encontram-se localizados no átomo de azoto da piperazina, permitem inferir uma total desprotonação do ácido azelaico por parte da piperazina (que funcionou como base moderadamente forte). Este resultado encontra-se concordante com as regras do  $\text{pK}_a$  ( $\Delta\text{pK}_a > 2,7$ )<sup>50</sup>, uma vez que os valores para ambas as espécies são de 4,5 (ácido azelaico) e 9,8 (piperazina), resultando numa diferença de 5,3. Neste caso, o homosintão  $R_2^2(8)$  formado entre os grupos carboxílicos do ácido azelaico é quebrado, resultando na formação de uma ponte de hidrogénio assistida por carga.

Este sal molecular cristaliza no grupo espacial monoclinico P2/c, sendo a unidade assimétrica constituída por metade de cada componente devido à existência de eixos de rotação própria de segunda ordem, em cada espécie (estequiometria 1:1). O empacotamento cristalino é baseado em interações bifurcadas N-H...O<sub>COO</sub><sup>-</sup> [1,76(3) e 2,51(3) Å], que permitem a formação de linhas ao longo de *b* (Figura 2.9a), sendo adicionalmente observado o caráter duplo aceitador de um dos oxigénios do grupo carboxilato [N-H...O<sub>COO</sub><sup>-</sup> 1.73(3) Å] que possibilita a conexão entre linhas vizinhas (Figura 2.9b). O ácido azelaico desprotonado apresenta, nesta forma cristalina, uma torsão na cadeia com o valor -60,9°. Considerando o empacotamento total da estrutura observam-se, ao longo de *b*, canais formados por moléculas de ácido azelaico desprotonado e piperazina protonada que se encontram dispostos de forma alternada (Figura 2.9b).



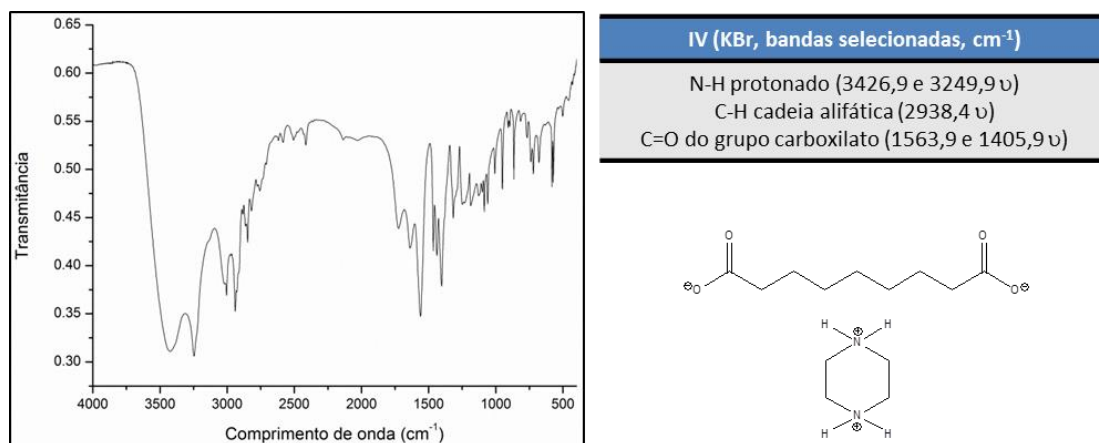
**Figura 2.9** Empacotamento cristalino do sal molecular anidro azelaico:piperazina com evidência das principais interações estabelecidas: **a** – linha ao longo de *b*; **b** – Canais formados por moléculas de ácido azelaico e piperazina, dispostos de forma alternada, ao longo de *b*. Destaque para o canal formado por moléculas de piperazina.

Analisando os difratogramas experimentais (Figura 2.10) obtidos para as amostras provenientes dos diferentes métodos de síntese, verifica-se que se obtém sempre o mesmo produto. Por comparação com o difratograma teoricamente calculado a partir do monocristal, confirma-se a obtenção do sal molecular anidro, com elevado grau de pureza.



**Figura 2.10** Difratogramas experimentais de DRXP para o sal molecular anidro azelaico:piperazina obtidos a partir de: **A** - co-cristalização em solução; **B** - moagem assistida por solvente num almofariz; **C** - moagem assistida por solvente num moinho de bolas; sobrepostos com **D** - difratograma teoricamente obtido a partir do monocristal.

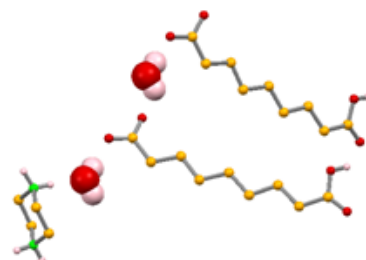
Pelo espectro de IV apresentado na Figura 2.11, é possível confirmar a presença do sal molecular através da existência de bandas características de aminas secundárias protonadas ( $\text{NH}_2^+$ ) e do grupo carboxilato ( $\text{COO}^-$ ).



**Figura 2.11** Espectro de IV do sal molecular anidro azelaico:piperazina, com a respetiva atribuição das bandas típicas dos grupos funcionais presentes em cada molécula.

### 2.3.1.3 Caracterização estrutural do sal molecular hidratado azelaico:piperazina

Embora não se encontre evidenciada a existência de outra forma cristalina nos difratogramas experimentais do sal molecular anidro anteriormente apresentado, foi possível detetar nos cristais formados a partir da co-cristalização em solução, duas fases cristalinas distintas: agulhas em grande quantidade e que demonstraram ser o sal molecular anidro previamente descrito e apenas muito poucas placas que se identificaram como um sal molecular hidratado. Esta forma cristaliza no grupo espacial triclinico P-1, com a unidade assimétrica constituída por duas moléculas de ácido azelaico, uma molécula de piperazina e duas moléculas de água (estequiometria 2:1:2) (Figura 2.12). Evidências que provam tratar-se de um sal molecular centralizam-se, novamente, nas distâncias observadas para a ligação C-O. Existe uma mono desprotonação em cada molécula de ácido azelaico, cujas distâncias C-O para ambas são 1,240(4), 1,274(4) Å e 1,241(4), 1,277(5) Å. Desta ocorrência resulta a protonação completa das moléculas de piperazina, justificada pela localização dos prótons nos átomos de azoto.

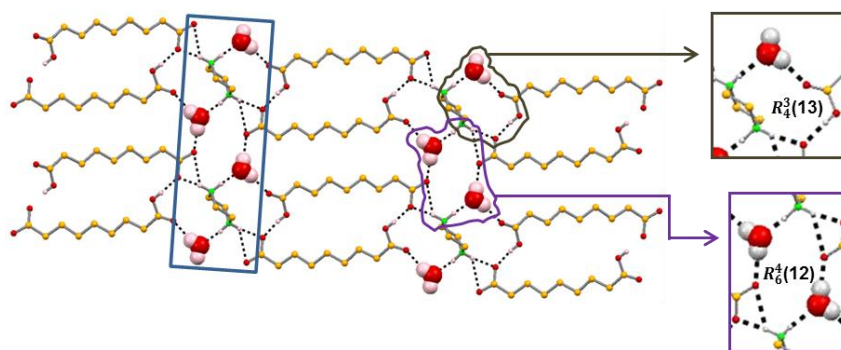


**Figura 2.12** Composição da unidade assimétrica: duas moléculas de ácido azelaico desprotonadas, uma molécula de piperazina protonada e duas moléculas de água.

O empacotamento cristalino ilustrado na Figura 2.13 é baseado em vários tipos de interação: na interação  $\text{N-H}_{\text{NH}_2}^+ \cdots \text{O}_{\text{COO}^-}$  (1.75(5) e 2.48(4) Å), o grupo carboxilato interatua de forma bifurcada com a amina secundária protonada da piperazina. Um dos átomos de



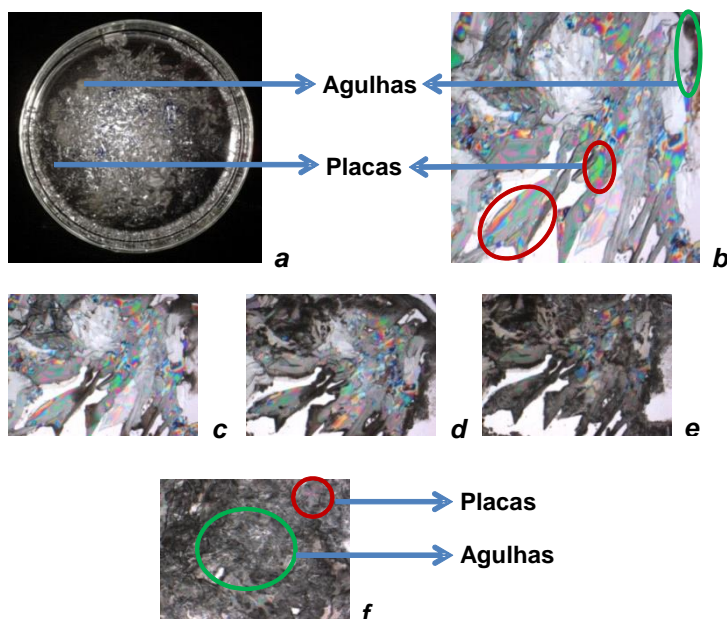
hidrogénio do grupo amina da piperazina protonada atua como duplo doador para os dois átomos de oxigénio em simultâneo (aceitador) do grupo carboxilato. Um desses átomos de oxigénio atua como duplo aceitador interagindo com um átomo de hidrogénio proveniente da amina secundária da piperazina protonada, e outro proveniente de um grupo carboxílico de outra molécula de ácido azelaico monodesprotonado [ $\text{O}-\text{H}_{\text{COOH}}\cdots\text{O}_{\text{COO}^-}$  1.70 e 1,74 Å]. As moléculas de água presentes na estrutura cristalina também desempenham um papel fulcral no empacotamento, pois possibilitam a formação de canais com moléculas de piperazina, e permitem a conexão entre as cadeias adjacentes de ácido azelaico monodesprotonado, por meio das interações  $\text{O}-\text{H}_{\text{H}_2\text{O}}\cdots\text{O}_{\text{COO}^-}$  (1.82(5) e 1.94(4) Å),  $\text{O}-\text{H}_{\text{H}_2\text{O}}\cdots\text{O}_{\text{COOH}}$  (2.05(4) e 2.03(4) Å) e  $\text{N}-\text{H}_{\text{NH}_2^+}\cdots\text{O}_{\text{H}_2\text{O}}$  (1.91(3) e 1.84(3) Å). A combinação de todas estas interações permite a formação de dois sintões,  $R_4^3(13)$  e  $R_6^4(12)$  adjacentes, como se verifica na expansão da Figura 2.13.



**Figura 2.13** Representação do empacotamento do sal molecular hidratado, segundo *a*, com evidência para o canal composto por moléculas de água e piperazina, e destaque para as interações existentes que levam à formação dos sintões  $R_4^3(13)$  e  $R_6^4(12)$ .

A co-cristalização inicial onde se obteve a mistura dos sais moleculares anidro e hidratado foi efetuada numa mistura de etanol:água (4:1) e, numa tentativa de obter o sal hidratado em maior proporção repetiram-se as sínteses (por co-cristalização em solução e moagem no almofariz) utilizando apenas água como solvente.

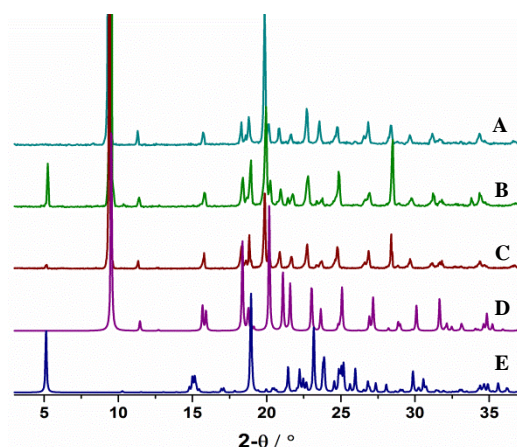
Pelo método de co-cristalização em solução verificou-se, ao fim de um dia, a formação de placas que cobriam toda a área de evaporação da caixa de Petri (Figura 2.14a). Estas placas foram testadas por DRXMC confirmando-se tratar da forma hidratada. Contudo, à medida que ocorria evaporação da água, começou-se a observar a formação de agulhas que, após nova análise por DRXMC, se confirmou ser a forma anidra. Na Figura 2.14 pode-se observar a conversão da forma hidratada na forma anidra, com recurso a microscopia e na presença de luz polarizada.



**Figura 2.14** Representação das várias etapas de conversão da forma hidratada (cristais em forma de placa) na forma anidra (cristais em forma de agulha): **a** – evidência de cristais em forma de placa e agulha; **b** – detalhes da presença de placas (várias cores) e agulhas (preto) ao microscópio na presença de luz polarizada; **c** – aspecto dos cristais após 5 minutos; **d** – aspecto dos cristais após 15 minutos, com clara evidência da formação de agulhas; **e** – aspecto dos cristais após 20 minutos, com o processo de conversão quase finalizado; **f** – evidência de várias agulhas (a preto) e de poucas placas (várias cores).

Pelos difratogramas apresentados na Figura 2.15, verifica-se que o produto obtido por moagem, na presença de água, corresponde maioritariamente ao sal molecular anidro observando-se apenas pequenos picos da forma hidratada.

Corroborar-se assim que a estabilidade da forma hidratada depende fortemente da presença de água no meio.



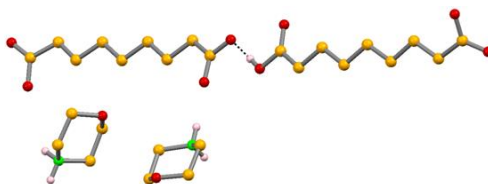
**Figura 2.15** Difratogramas experimentais de DRXP para o sal molecular azelaico:piperazina obtido a partir de: **A** - moagem assistida por solvente (água) num almofariz; **B** – solução; **C** - solução, após a amostra permanecer, sob condições atmosféricas durante um dia; sobrepostos com os difratogramas teoricamente obtidos a partir do monocrystal de **D** - sal molecular anidro e **E** - hidratado.

Analisando as distâncias das interações estabelecidas entre as moléculas de água e os íons de piperazina e azelaico, verifica-se que em média são superiores às distâncias observadas para as interações entre a piperazina protonada e o ácido azelaico desprotonado, tornando-as mais fáceis de quebrar. Não obstante, as distâncias de interação existentes entre estes íons, no sal molecular hidratado e anidro, são semelhantes.

Devido à impossibilidade de se isolar esta forma metastável, em quantidade apreciável, não foi possível caracterizá-la estruturalmente pelas técnicas de RMN de solução e estado sólido, espectroscopia de fotoeletrão, IV e IV próximo.

#### 2.3.1.4 Caracterização estrutural do sal molecular anidro azelaico:morfolina

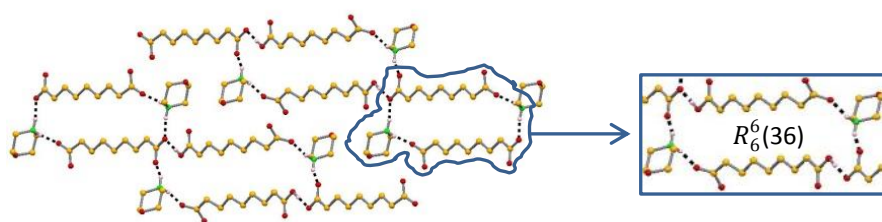
Fazendo reagir o ácido azelaico com a morfolina, obtém-se um sal molecular, uma vez que os prótons do grupo carboxílico encontram-se localizados no átomo de azoto da morfolina protonada e as distâncias da ligação C-O correspondem a valores típicos para grupos carboxilatos (1,228(4), 1,278(4), 1,277(4), e 1,239(4), 1,280(4) Å). No entanto, existe desordem de um átomo de hidrogénio em três posições, pelo que não foi possível localizá-lo com precisão. Este sal molecular anidro cristaliza no grupo espacial triclinico P-1 e a unidade assimétrica é constituída por duas moléculas de ácido azelaico desprotonadas e duas moléculas de morfolina protonadas (estequiometria 1:1), como se observa na Figura 2.16.



**Figura 2.16** Composição da unidade assimétrica: duas moléculas de ácido azelaico desprotonadas e duas moléculas de morfolina protonadas.

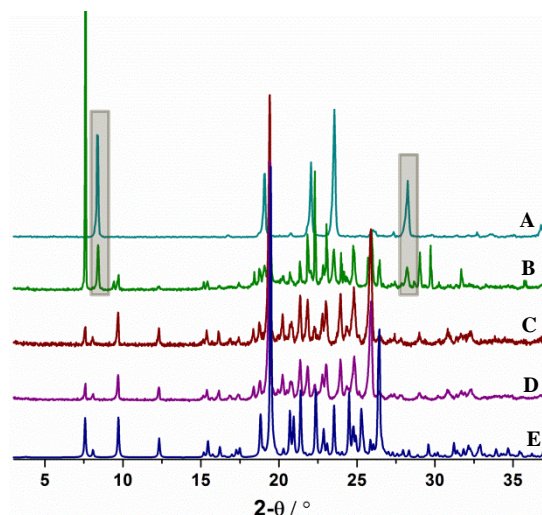
O empacotamento cristalino deste sal molecular é baseado em interações do tipo  $[N-H_{NH_2}^+ \cdots O_{COO}^- 1.76(4) \text{ e } 1.84(3) \text{ \AA}]$  em que cada hidrogénio da amina secundária protonada funciona como doador para dois átomos de oxigénio dos grupos carboxilatos de duas moléculas de ácido azelaico desprotonadas independentes, e  $[O-H_{COOH} \cdots O_{COO}^- 1.75 \text{ \AA}]$  em que um átomo de hidrogénio do grupo carboxílico atua como doador e o oxigénio do grupo carboxilato de outra molécula de ácido azelaico desprotonada, como aceitador. A combinação destas interações permite que seja formado do sintão  $R_6^6(36)$ , delimitado por duas moléculas de cada componente (expansão da Figura 2.17). Este sintão encontra-se repetido ao longo de  $a$ , sendo as duas cadeias de ácido azelaico, que estabelecem entre si a interação  $O-H_{COOH} \cdots O_{COO}^-$ , responsáveis por este fenómeno.





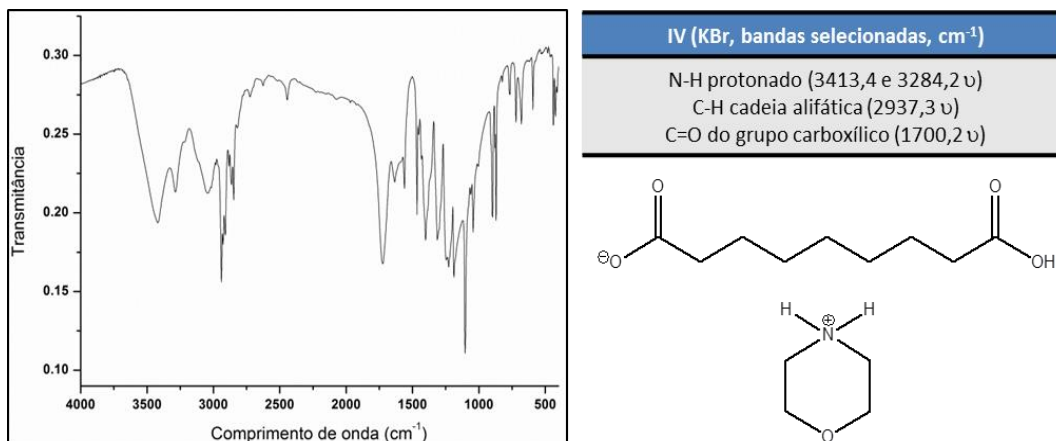
**Figura 2.17** Representação do empacotamento, segundo  $a$ , do sal molecular azelaico:morfolina com evidência do sintão formado,  $R_6^6(36)$ , como resultado das interações estabelecidas entre as duas espécies.

Recorrendo à técnica de DRXP foi possível verificar que a amostra proveniente do método de co-cristalização em solução não se encontra totalmente pura, uma vez que consiste numa mistura entre a nova forma cristalina e o PFA, como evidenciado na Figura 2.18. Pelas técnicas de moagem assistida por solvente no almofariz e no moinho de bolas verifica-se que o produto resultante se encontra puro e corresponde ao sal molecular azelaico:morfolina.



**Figura 2.18** Difratogramas experimentais de DRXP para: **A** - ácido azelaico; **B** - sal molecular azelaico:morfolina obtido a partir da co-cristalização em solução; **C** - moagem assistida por solvente num almofariz; **D** - moagem assistida por solvente num moinho de bolas; sobrepostos com **E** - difratograma teoricamente obtido a partir do monocristal.

Analisando o espectro de IV representado na Figura 2.19, é possível confirmar os resultados obtidos por difração de raios-X, uma vez que se identificam as bandas características do grupo  $\text{NH}_2^+$  e do  $\text{COO}^-$ .

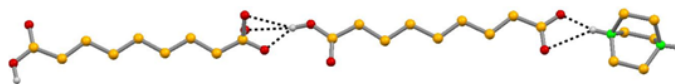


**Figura 2.19** Espectro de IV do sal molecular anidro azelaico:morfolina, com a respetiva atribuição das bandas típicas dos grupos funcionais presentes em cada molécula.

### 2.3.1.5 Caraterização estrutural do sal molecular anidro azelaico:DABCO

Dário Braga e colaboradores<sup>117</sup> reportaram a formação de um co-cristal entre o ácido azelaico e o DABCO, sob condições experimentais semelhantes às que foram utilizadas neste estudo (mesmo solvente, estequiometria inicial e tempo de agitação). De acordo com a regra do  $\Delta pK_a$ <sup>50</sup>, seria de esperar a formação de um sal molecular em vez de um co-cristal ( $\Delta pK_a=3,65$ ). Considerando esta regra, foi testada a reatividade do ácido azelaico com o DABCO.

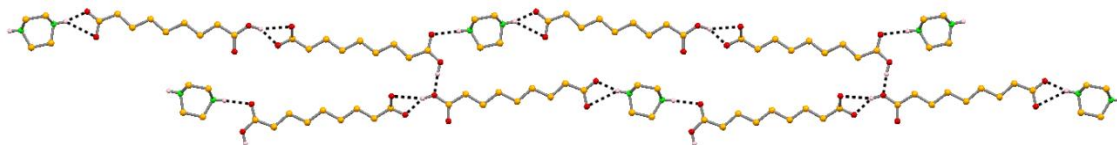
Como se observa pela Figura 2.20, o produto cristalizado no grupo espacial ortorrômbico Pnma é um sal molecular anidro cuja unidade assimétrica é constituída por duas moléculas de ácido azelaico desprotonadas e uma molécula de DABCO protonada (estequiometria 2:1). Ocorre desprotonação de dois grupos carboxílicos de diferentes moléculas de ácido azelaico (distâncias de ligação C-O 1,195(9), 1,209(10), 1,214(13) e 1,147(10) Å), resultando na dupla protonação das moléculas de DABCO, suportada pela localização dos prótons nos dois átomos de azoto das aminas terciárias. Existe um desordem num átomo de oxigénio caracterizada pela existência de um plano de simetria que atravessa a ligação C-O.



**Figura 2.20** Composição da unidade assimétrica: duas moléculas de azelaico monodesprotonadas e uma molécula de DABCO protonada.

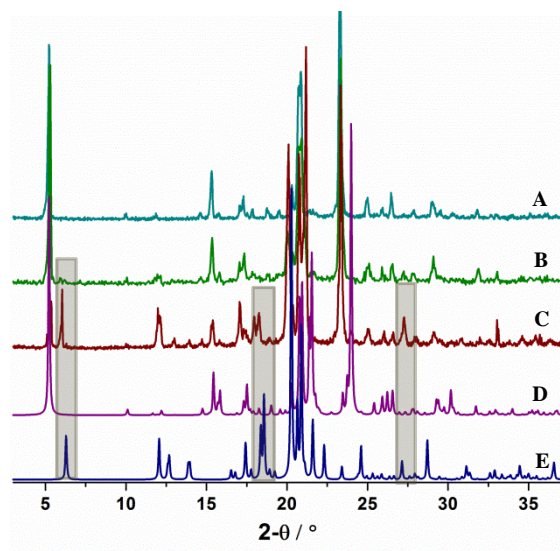
No que diz respeito aos arranjos supramoleculares e interações entre as duas espécies, é possível verificar que, ao contrário do que se observa no co-cristal obtido por Dario Braga e colaboradores<sup>117</sup>, em que o empacotamento cristalino é baseado em moléculas de ácido azelaico e DABCO dispostas alternadamente por meio da interação O-H...N, o sal molecular aqui apresentado é baseado em duas moléculas de ácido azelaico desprotonado e

uma molécula de DABCO protonada que interatuam entre si por meio de interações N-H...O e O-H...O (Figura 2.21). Neste caso, o típico  $R_2^2(8)$  formado entre os grupos carboxílicos do ácido azelaico é quebrado para dar origem a interações do tipo O-H<sub>COOH</sub>...O<sub>COO</sub><sup>-</sup> (1,79(7) e 2,52(3) Å), em que existe uma interação bifurcada onde o hidrogénio do grupo carboxílico do ácido azelaico atua como doador para os dois átomos de oxigénio do carboxilato de outra molécula de ácido azelaico desprotonada (aceitador); O-H<sub>COOH</sub>...O<sub>COOH</sub> (1,60(7) Å), em que um oxigénio do grupo carboxílico do azelaico atua como aceitador e o respetivo hidrogénio, como doador; N-H<sub>NH</sub><sup>+</sup>...O<sub>COO</sub><sup>-</sup> (1,78 e 2,57 Å) em que existe outra interação bifurcada onde o hidrogénio da amina terciária protonada do DABCO atua como doador para dois átomos de oxigénio do grupo carboxilato do ácido azelaico; e N-H<sub>NH</sub><sup>+</sup>...O<sub>COOH</sub> (2,05(10) Å), em que o átomo de hidrogénio da amina terciária do DABCO atua como doador e o oxigénio do grupo carboxílico do azelaico, como aceitador. Segundo a pesquisa na CSD<sup>26</sup>, descrita anteriormente, a probabilidade de se formar o sintão N-H...O é superior (3,0%) à probabilidade de ocorrer formação O-H...N (1,2%).



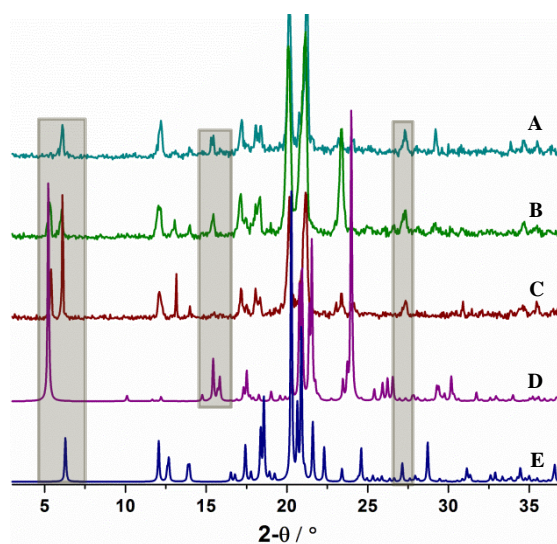
**Figura 2.21** Representação do empacotamento do sal molecular anidro azelaico:DABCO, segundo *b*, com evidência das interações estabelecidas entre as duas moléculas.

Recorrendo à técnica de DRXP, foi possível constatar que pelos métodos de co-cristalização em solução e moagem assistida por solvente no almofariz, os produtos obtidos são o mesmo e por comparação com o difratograma teoricamente obtido a partir do monocristal, verifica-se que corresponde ao sal molecular. Contudo, observando o difratograma da amostra obtida por moagem assistida por solvente no moinho de bolas e comparando-o com os difratogramas teóricos do sal molecular azelaico:DABCO e do co-cristal, obtido por Dário Braga e colaboradores, verifica-se uma mistura das duas formas cristalinas (Figura 2.22). É importante referir que o co-cristal reportado também não foi obtido de forma pura, uma vez que os autores verificaram evidências de mistura com outra forma que não foi identificada.<sup>117</sup>



**Figura 2.22** Difratomogramas experimentais de DRXP para o sal molecular azelaico:DABCO obtido a partir de: **A** - co-cristalização em solução; **B** - moagem assistida por solvente num almofariz; **C** - moagem assistida por solvente num moinho de bolas; sobrepostos com os difratogramas teoricamente obtidos a partir do monocristal para **D** - sal molecular e **E** - co-cristal.

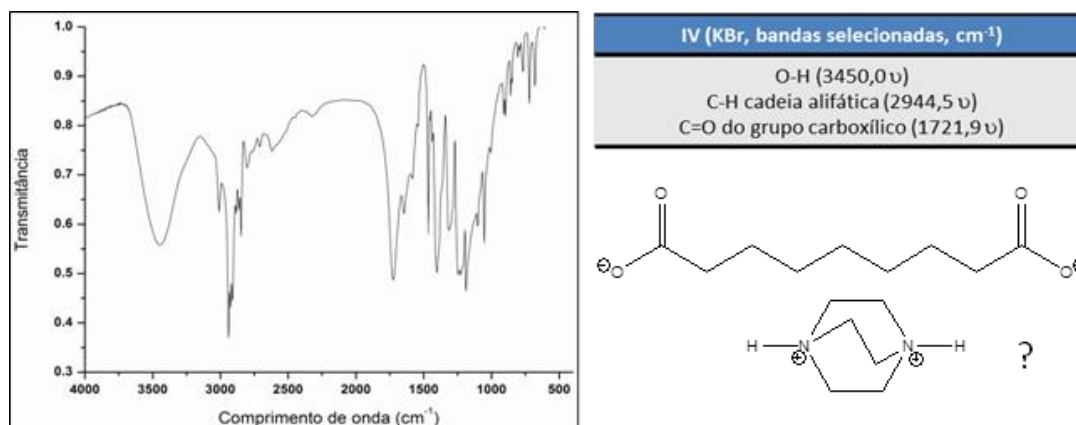
Quando se procedeu a uma nova síntese utilizando os métodos de co-cristalização por solução e moagem assistida por solvente no moinho de bolas, verificou-se que já não foi possível obter de forma pura o sal molecular anidro, verificando-se uma mistura das duas formas cristalinas (sendo a quantidade de co-cristal superior à de sal molecular anidro). Recorrendo à técnica de suspensões em agitação (em que se suspenderam todas as amostras obtidas anteriormente, pelos métodos sintéticos aplicados, numa solução de etanol), não foi possível observar a conversão para uma das formas, mantendo-se mistura (Figura 2.23).



**Figura 2.23** Difratomogramas experimentais de DRXP para o sal molecular azelaico:DABCO obtido a partir de: **A** - solução; **B** - moagem assistida por solvente num moinho de bolas; **C** - suspensão em agitação; sobrepostos com os difratogramas teoricamente obtidos a partir do monocristal para **D** - sal molecular e **E** - co-cristal.

Importa salientar que o sal molecular foi sintetizado em condições atmosféricas distintas das que foram aplicadas para a repetição das sínteses, uma vez que a primeira síntese foi efetuada no Verão (com temperatura de aproximadamente 25 °C e humidade reduzida), e a repetição do processo sintético foi efetuada no Outono-Inverno com temperaturas mais baixas (aproximadamente 18°C) e com humidade mais elevada. Estas oscilações das condições atmosféricas poderão influenciar massivamente a reprodutibilidade das sínteses, especialmente quando as formas utilizadas no processo sintético possuem alto teor higroscópico (como é o caso do DABCO).

Devido à impossibilidade de se obter uma quantidade apreciável e pura desta nova forma cristalina sintetizada, não foi possível caracterizá-la estruturalmente pelas técnicas de RMN de solução e estado sólido. Contudo, ainda foi possível realizar análise por IV. Como se pode observar pela Figura 2.24, não é possível identificar as bandas típicas dos grupos  $\text{NH}_2^+$  (amina terciária do DABCO) e  $\text{COO}^-$ , inferindo-se que devido a fatores de estabilidade inerentes a alterações atmosféricas (anteriormente explicitados), o sal molecular poderá eventualmente ter convergido ao longo do tempo para o co-cristal reportado por Dário Braga e colaboradores. Esta evidência é suportada pela observação das bandas típicas do ácido carboxílico (OH a  $3450,0\text{ cm}^{-1}$  e C=O a  $1721,9\text{ cm}^{-1}$ ).



**Figura 2.24** Espectro de IV do sal molecular azelaico:DABCO, com a respetiva atribuição das bandas típicas dos grupos funcionais presentes em cada molécula.

**Tabela 2.4** Distâncias das ligações de hidrogénio e ângulos para as novas formas cristalinas.

Estrutura	Operação de simetria	D-H...A	d(D-H) (Å)	d(H...A) (Å)	d(D...A) (Å)	DHA (°)
<b>Azelaico:4,4'-bipiridina</b>	1/2+x, -5/2-y, 1/2+z	O <sub>COOH</sub> ...N <sub>piridina</sub>	0,82	1,81	2,611(5)	167
	x, y, z	O <sub>COOH</sub> ...N <sub>piridina</sub>	0,82	1,83	2,651(5)	175
<b>Azelaico: piperazina anidro</b>	1+x, y, z	N <sub>NH2</sub> , catião...O <sub>COO</sub>	0,97(3)	2,51(3)	3,144(6)	123(2)
	1+x, y, z	N <sub>NH2</sub> , catião...O <sub>COO</sub>	0,97(3)	1,76(3)	2,683(5)	159(3)
	x, y, z	N <sub>NH2</sub> , catião...O <sub>COO</sub>	0,96(3)	1,73(3)	2,682(5)	174(3)
	1-x, -y, -z	N <sub>NH2</sub> , catião...O <sub>H2O</sub>	0,88(3)	1,91(3)	2,757(4)	161(4)
<b>Azelaico: piperazina hidrato</b>	1-x, 1-y, -z	N <sub>NH2</sub> , catião...O <sub>COO</sub>	0,99(5)	1,75(5)	2,715(4)	166(4)
	1-x, 1-y, -z	N <sub>NH2</sub> , catião...O <sub>COO</sub>	0,99(5)	2,48(4)	3,168(4)	126(3)
	2-x, 2-y, 1-z	O <sub>COOH</sub> ...O <sub>COO</sub>	0,82	1,70	2,513(4)	170
	x, -1+y, z	N <sub>NH2</sub> , catião...O <sub>COO</sub>	0,90(3)	1,86(3)	2,714(4)	156(4)
	x, -1+y, z	N <sub>NH2</sub> , catião...O <sub>COO</sub>	0,90(3)	2,59(4)	3,188(4)	124(3)
	x, y, z	N <sub>NH2</sub> , catião...O <sub>H2O</sub>	0,91(3)	1,84(3)	2,746(5)	175(4)
	1-x, 2-y, 1-z	O <sub>COOH</sub> ...O <sub>COO</sub>	0,82	1,74	2,555(4)	173
	x, y, z	O <sub>H2O</sub> ...O <sub>COO</sub>	0,86(5)	1,82(5)	2,671(4)	169(5)
	1-x, 1-y, 1-z	O <sub>H2O</sub> ...O <sub>COOH</sub>	0,75(5)	2,05(4)	2,765(4)	159(4)
	x, y, z	O <sub>H2O</sub> ...O <sub>COO</sub>	0,74(4)	1,94(4)	2,670(5)	175(3)
	2-x, 1-y, 1-z	O <sub>H2O</sub> ...O <sub>COOH</sub>	0,80(5)	2,03(4)	2,806(4)	164(4)
	x, -1+y, z	N <sub>NH2</sub> , catião...O <sub>COO</sub>	0,93(4)	1,76(4)	2,678(4)	170(4)
<b>Azelaico: morfolina</b>	1+x, y, z	N <sub>NH2</sub> , catião...O <sub>COO</sub>	0,93(3)	1,84(3)	2,667(4)	147(3)
	2-x, -y, -z	N <sub>NH2</sub> , catião...O <sub>COO</sub>	0,90(3)	1,83(3)	2,713(4)	166(3)
	-x, 2-y, 1-z	N <sub>NH2</sub> , catião...O <sub>COO</sub>	0,90(3)	1,84(3)	2,711(3)	163(3)
	x, y, z	O <sub>COOH</sub> ...O <sub>COO</sub>	0,82	1,75	2,569(3)	176
<b>Azelaico: DABCO</b>	x, y, z	N <sub>NH</sub> , catião...O <sub>COO</sub>	0,91	2,57	3,341(8)	142
	x, y, z	N <sub>NH</sub> , catião...O <sub>COO</sub>	0,91	1,78	2,675(8)	167
	1/2+x, 1/2-y, 3/2-z	O <sub>COOH</sub> ...O <sub>COOH</sub>	0,91(7)	1,60(7)	2,508(7)	175(7)
	x, y, 1+z	N <sub>NH</sub> , catião...O <sub>COOH</sub>	0,85(10)	2,05(10)	2,899(7)	178(8)
	x, y, z	O <sub>COOH</sub> ...O <sub>COO</sub>	0,91(4)	1,79(7)	2,629(8)	152(8)
	x, y, z	O <sub>COOH</sub> ...O <sub>COO</sub>	0,91(4)	2,52(3)	3,345(8)	151(5)
	x, 1/2-y, z	O <sub>COOH</sub> ...O <sub>COO</sub>	0,91(4)	2,52(3)	3,345(8)	151(5)

### 2.3.1.6 Complementação da caracterização estrutural por RMN de solução

Os sais moleculares anidros (azelaico:morfolina e azelaico:piperazina) foram estudados por <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C RMN em solução (D<sub>2</sub>O). A atribuição dos sinais foi efetuada com recurso a técnicas bidimensionais de *correlation spectroscopy* (COSY), *heteronuclear single quantum correlation* (HSQC) e *heteronuclear multiple bond correlation* (HMBC).

Pela integração dos sinais de <sup>1</sup>H RMN obtidos para o sal molecular azelaico:piperazina é evidente que as unidades constituintes se encontram numa proporção de 1:1. A existência deste sal em solução aquosa é inequivocamente identificada através da comparação dos sinais de <sup>13</sup>C RMN e <sup>1</sup>H RMN (Tabela 2.5 e Figura 2.25).

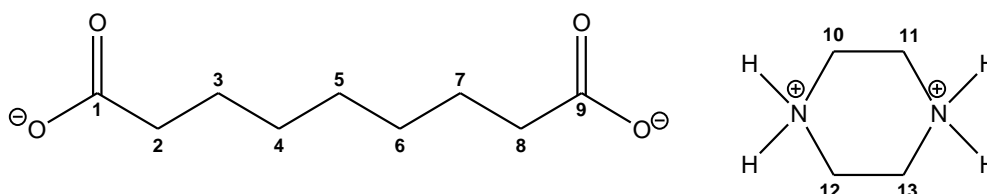
Como se pode verificar pela Tabela 2.5, existe um desvio para campo mais baixo de todos os sinais de <sup>13</sup>C RMN da unidade de ácido azelaico do sal molecular, quando comparados com os desvios correspondentes no ácido azelaico puro. O efeito de desblindagem destes carbonos (que é atribuído ao efeito de campo eléctrico criado pelo grupo carboxilato) é decrescente desde o carbono carbonílico ao carbono 5, estando a magnitude dos desvios observados de acordo com os descritos na literatura.<sup>120</sup>

Nos carbonos da unidade de piperazina presente no sal molecular, existe um desvio de 3.6 ppm para campo mais alto comparativamente aos desvios encontrados na piperazina pura. A magnitude deste desvio encontra-se de acordo com o expectável para carbonos em posições

$\beta$  em relação a um grupo amónio.<sup>120</sup> A protonação da piperazina é ainda comprovada pela coincidência dos desvios entre esta unidade no sal molecular e os obtidos para o sal hidrocloreto de piperazínio.

**Tabela 2.5** Comparação dos valores dos desvios químicos de  $^{13}\text{C}$  RMN obtidos para o ácido azelaico e piperazina com os valores obtidos para os sais hidrocloreto de piperazínio e ácido azelaico:piperazina.<sup>1</sup>

	ácido azelaico ( $\delta$ ppm)	Piperazina ( $\delta$ ppm)	Hidrocloreto de piperazínio ( $\Delta\delta$ ppm)	Ácido azelaico:piperazina ( $\Delta\delta$ ppm)
C1+C9	179,6	-	-	+4,2 <sup>2</sup>
C2+C8	33,9	-	-	+3,6
C3+C7	24,2	-	-	+1,6
C4+C6	27,9	-	-	+0,8
C5	27,9	-	-	+0,2
C10+C13	-	44,7	-3,6	-3,6 <sup>3</sup>
C11+C12	-			



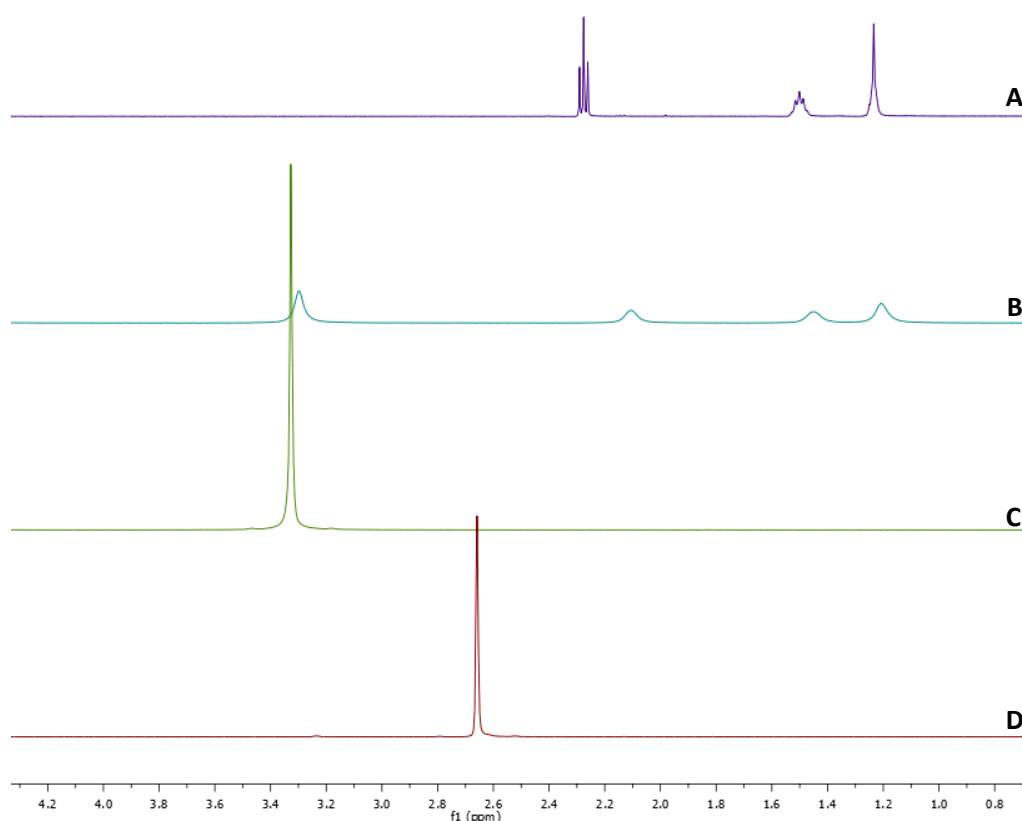
<sup>1</sup> Espectros obtidos em  $\text{D}_2\text{O}$ .

<sup>2</sup> O sinal + indica um desvio para campo mais baixo

<sup>3</sup> O sinal – indica um desvio para campo mais alto.

No espectro de  $^1\text{H}$  RMN do sal molecular são também observados os desvios expectáveis em relação à piperazina e ácido azelaico puros (Figura 2.25), devido aos efeitos de carga positiva e negativa, criados pelos grupos amónio e carboxilato respetivamente: um desvio, para campo mais alto, dos sinais correspondentes à unidade de piperazina (os desvios obtidos para esta unidade são praticamente coincidentes com os obtidos para o hidrocloreto de piridínio), e um desvio para campo mais alto dos prótons da posição adjacente ao grupo carboxilato.





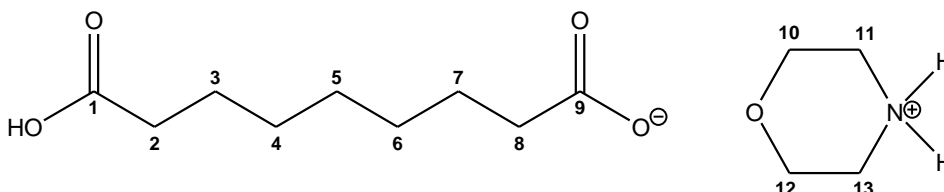
**Figura 2.25** Comparação dos espectros de <sup>1</sup>H RMN, adquiridos em D<sub>2</sub>O: A - ácido azelaico; B - sal molecular ácido azelaico:piperazina; C - hidrocloreto de piperazínio; D - piperazina.

Em solução aquosa, as duas unidades que constituem o sal molecular ácido azelaico:morfolina encontram-se também numa proporção estequiométrica de proximamente 1:1. Nos espectros obtidos apenas foi possível observar os sinais correspondentes a uma espécie de cada uma das unidades que constituem este sal molecular, não se conseguindo distinguir as formas protonadas e desprotonadas. Os desvios químicos observados nos espectros de <sup>1</sup>H RMN e <sup>13</sup>C RMN para esta forma cristalina, não são tão nítidos como os que se observaram para o sal molecular ácido azelaico:piperazina (Tabela 2.6). Esta situação demonstra que no tempo de escala do RMN é observada uma imagem média das espécies que existem em solução, havendo um processo dinâmico envolvido. Este processo é descrito, na análise por DRXMC, como a existência de um átomo de hidrogénio desordenado que ocupa, alternadamente, três posições.



**Tabela 2.6** Comparação dos valores dos desvios químicos de  $^{13}\text{C}$  RMN obtidos para o ácido azelaico e morfolina com os valores obtidos para o sal molecular ácido azelaico:morfolina.<sup>1</sup>

	Ácido azelaico ( $\delta$ ppm)	Morfolina ( $\delta$ ppm)	Ácido azelaico:morfolina ( $\Delta\delta$ ppm)
C1+C9	179,6	-	+2,6 <sup>2</sup>
C2+C8	33,9	-	+2,1
C3+C7	24,2	-	+0,9
C4+C6	27,9	-	+0,4
C5	27,9	-	+0,2
C10+C13	-	67,0	-3,5 <sup>3</sup>
C11+C12	-	44,4	-1,3



<sup>1</sup> Espectros obtidos em  $\text{D}_2\text{O}$ .

<sup>2</sup> O sinal + indica um desvio para campo mais baixo

<sup>3</sup> O sinal – indica um desvio para campo mais alto.

O co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina também foi analisado por  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  RMN em solução de  $\text{CDCl}_3$  (solvente mais usualmente utilizado para monitorizar a existência de pontes de hidrogénio). No entanto, e apesar das várias tentativas que foram desenvolvidas envolvendo o recurso a várias técnicas correntemente utilizadas para provar a existência de pontes de hidrogénio<sup>121</sup>, como a monitorização dos espectros de  $^1\text{H}$  RMN a várias temperaturas, titulação do ácido azelaico com 4,4-bipiridina e execução de experiências de RMN que permitem a determinação dos coeficientes de difusão em solução (*Diffusion Ordered Spectroscopy* - DOSY), nunca foi possível obter qualquer indicação inequívoca da existência de uma ponte de hidrogénio intermolecular entre as unidades de ácido azelaico e 4,4-bipiridina em solução.

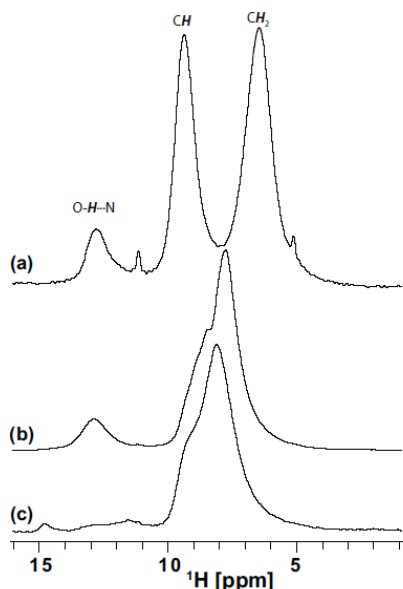
### 2.3.1.7 Complementação da caracterização estrutural por RMN de estado sólido

O RMN de estado sólido tem-se revelado uma ferramenta de extrema utilidade e complementaridade às técnicas de difração de raios-X. Deste modo, são apresentados seguidamente os resultados experimentais obtidos com esta técnica, bem como a relação com os resultados previamente obtidos por difração de raios-X.

Através do espectro de  $^1\text{H}$  DUMBO MAS NMR, é possível, no caso do co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina (Figura 2.26a) atribuir os sinais dos prótons da cadeia alifática do ácido azelaico e dos anéis aromáticos da 4,4'-bipiridina, bem como verificar o tipo de interação entre as duas espécies envolvidas ( $\text{O-H}\cdots\text{N}$ ). Esta interação observada encontra-se de acordo com os resultados previamente discutidos para a técnica de DRXMC. Relativamente aos sais moleculares azelaico:piperazina e azelaico:morfolina (Figura 2.26b e 2.26c) ocorre coalescência dos sinais característicos da zona alifática do ácido azelaico desprotonado, piperazina e morfolina desprotonadas, não sendo possível efetuar uma atribuição específica dos sinais aos prótons existentes na estrutura. O sinal correspondente à interação  $\text{O-H}\cdots\text{N}$

apresenta uma intensidade substancialmente mais reduzida verificando-se, para o caso do sal molecular ácido azelaico:morfolina, um desvio notório para campo mais baixo.

A diferença encontrada nos desvios químicos do sinal correspondente à interação O-H...N prende-se com o facto das forças de interação e o número de interações ser diferente para cada forma cristalina. Neste estudo, o sal molecular anidro azelaico:morfolina apresenta forças de ligação semelhantes às que se verificam para as outras duas formas cristalinas, mas possui um maior número de interações (cinco) o que implica um desvio maior para campo mais baixo. Por outro lado, para o co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina e sal molecular anidro azelaico:piperazina o número de interações é semelhante (duas interações para o co-cristal e três para o sal molecular), implicando que a diferença nos desvios químicos não seja muito acentuada.



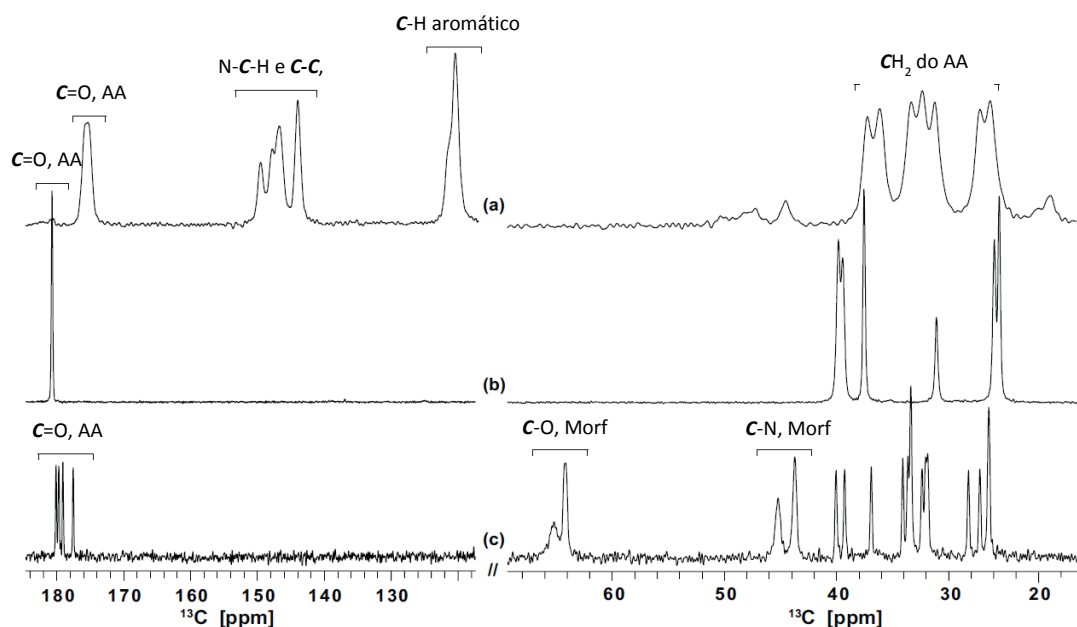
**Figura 2.26** Espetro 1D  $^1\text{H}$  DUMBO MAS NMR de (a) ácido azelaico:4,4'-bipiridina, (b) azelaico:piperazina e (c) azelaico:morfolina.

Através da análise do espectro de  $^{13}\text{C}$  CPMAS RMN, observa-se que em todas as formas cristalinas foi possível fazer uma atribuição dos sinais obtidos aos carbonos existentes em cada espécie. Para o co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina o número de ressonâncias observadas corresponde a metade do número de átomos presentes, uma vez que as duas metades de molécula (ácido azelaico e piperazina) encontram-se simetricamente relacionadas sendo, por conseguinte, magneticamente equivalentes.

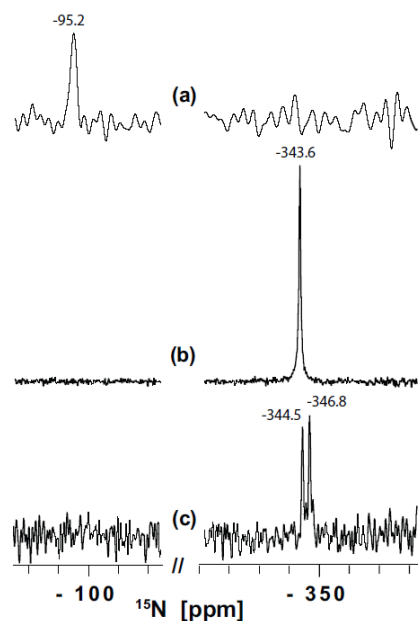
Para o sal molecular azelaico:morfolina (Figura 2.27c), o número de ressonâncias observadas ao longo de toda a janela espectral é consistente com a existência de duas moléculas na unidade assimétrica (estequiometria 2:1). Contudo, através da análise do espectro de  $^{15}\text{N}$  CPMAS (Figura 2.28c), são observadas duas ressonâncias que se encontram de acordo com a existência de duas moléculas de morfolina. Combinando estas duas informações,

concordantes com a existência de duas moléculas de ácido azelaico (quatro ressonâncias do grupo carbonilo), a estequiometria deste composto é 1:1, o que confirma os resultados obtidos por difração de raios-X.

Tendo em consideração os desvios químicos de  $^{15}\text{N}$  (Figura 2.28), para cada mistura, e comparando-os com a referência de desvio químico da glicina ( $\text{NH}_3^+$  a -347,6 ppm), os compostos ácido azelaico:piperazina e ácido azelaico:morfolina possuem átomos de azoto protonados pois os seus desvios químicos são próximos do desvio químico da glicina, permitindo deste modo inferir que se trata de dois sais moleculares (tal como se verifica nos resultados obtidos por difração de raios-X). O composto ácido azelaico:4,4'-bipiridina, com um desvio químico de -95,2 ppm, concordante com átomos de azoto piridínicos não protonados (para o derivado da piridina<sup>122</sup>), aponta para a formação de um co-cristal composto por interações por pontes de hidrogénio do tipo  $\text{O-H}\cdots\text{N}$ .



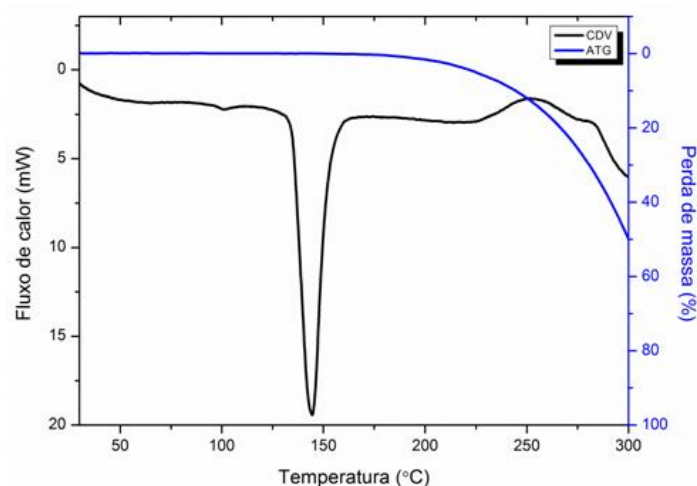
**Figura 2.27** Espectro 1D  $^{13}\text{C}$  CPMAS NMR de (a) ácido azelaico:4,4'-bipiridina, (b) ácido azelaico:piperazina e (c) ácido azelaico:morfolina.



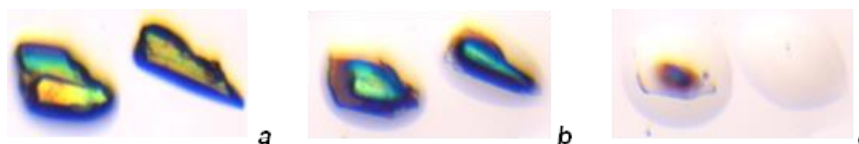
**Figura 2.28** Espectro 1D  $^{15}\text{N}$  CPMAS NMR de (a) ácido azelaico:4,4'-bipiridina, (b) azelaico:piperazina e (c) azelaico:morfolina.

### 2.3.2 Caracterização térmica

O co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina não apresenta nenhuma transição de fase até à fusão que ocorre a 144,6°C (Figura 2.29), sendo este valor de ponto de fusão superior ao do PFA na forma pura (109-111°C). Pela técnica de termomicroscopia (Figura 2.30), observa-se o processo de fusão da forma cristalina, confirmando-se o valor do ponto de fusão obtido pela técnica acoplada de CDV-ATG.



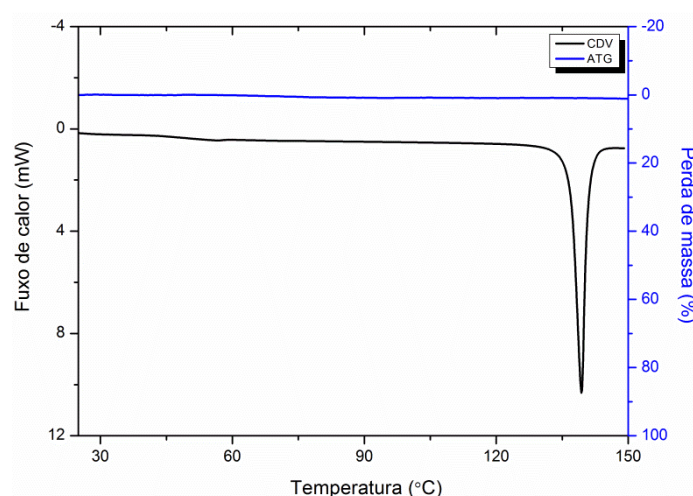
**Figura 2.29** CDV e ATG do co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina em que se observa o ponto de fusão a 144,6 °C.



**Figura 2.30** Termomicroscopia para o co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina a **a** - 21 °C; **b** - 141,1 °C – começo do processo de fusão e **c** - 145,0 °C – fusão.

Uma possível justificação para a observação de uma estabilidade térmica superior para esta nova forma cristalina reside no facto da interação O-H...N ser mais forte (distância de ligação curta) do que o sintão  $R_2^2(8)$  formado no empacotamento cristalino do ácido azelaico na forma pura. Ademais a eficiência de empacotamento (70,1%) e respetiva densidade (1,294 mg.cm<sup>-3</sup>) do co-cristal, são relativamente superiores ao que se verifica para o ácido azelaico (68,3 % e 1,260 mg.cm<sup>-3</sup>), o que possibilita uma maior estabilidade estrutural.

O ponto de fusão obtido a partir da técnica acoplada de CDV-ATG, para o sal molecular anidro azelaico:piperazina é superior (144,1 °C, Figura 2.31) ao do PFA na forma pura, não se detetando qualquer fenómeno até esse ponto, o que implica que seja termicamente mais estável. Esta observação é confirmada pela técnica de termomicroscopia (Figura 2.32) que possibilitou a recolha de imagens no fase inicial e final do processo de fusão.



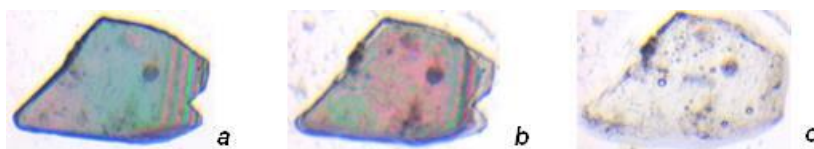
**Figura 2.31** CDV e ATG do sal molecular anidro azelaico:piperazina em que se observa o ponto de fusão a 144,1 °C.



**Figura 2.32** Termomicroscopia para o sal molecular anidro azelaico:piperazina a **a** - 28,5 °C; **b** - 141,3 °C – começo do processo de fusão e **c** - 144,8 °C – fusão.

Comparando a eficiência de empacotamento do sal molecular anidro com o do ácido azelaico na forma pura, verifica-se uma melhoria (68,3% para o PFA e 69,0 % para o sal molecular anidro) que poderá permitir maior estabilidade estrutural. Adicionalmente, a interação N-H...O apresenta-se mais forte (existe uma interação bifurcada e outra simples) do que o sintão  $R_2^2(8)$  formado entre os grupos carboxílicos do ácido azelaico, o que poderá auxiliar na sua estabilidade. Relativamente às densidades, observa-se que o ácido azelaico possui maior densidade ( $1,260 \text{ mg.cm}^{-3}$ ) do que o sal molecular sintetizado ( $1,237 \text{ mg.cm}^{-3}$ ).

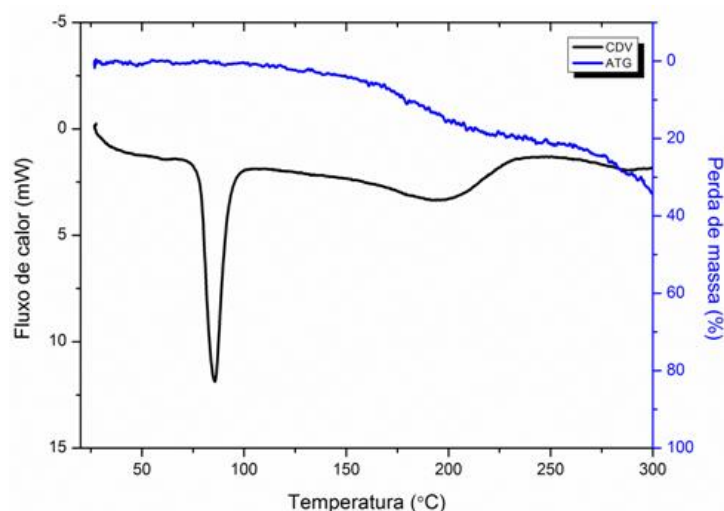
Como referido anteriormente, não foi possível isolar o sal molecular hidratado azelaico:piperazina de modo a realizar uma caracterização mais detalhada. Assim, e considerando a análise térmica realizada a partir de termomicroscopia (Figura 2.33), verifica-se que o ponto de fusão desta forma cristalina é inferior ( $81,3^\circ\text{C}$ ) ao obtido para o ácido azelaico puro e sal molecular anidro, corroborando-se uma estabilidade térmica inferior para esta nova forma cristalina. Apesar do número de interações existentes ser superior ao que se observa para a forma anidra e ácido azelaico, as suas distâncias em média são superiores e a existência de solvente (água) na estrutura poderá contribuir para uma estabilidade térmica mais baixa.



**Figura 2.33** Termomicroscopia para o sal molecular hidratado azelaico:piperazina a **a** -  $23,7^\circ\text{C}$ ; **b** -  $81,3^\circ\text{C}$  – começo do processo de fusão; **c** -  $81,7^\circ\text{C}$  – fusão.

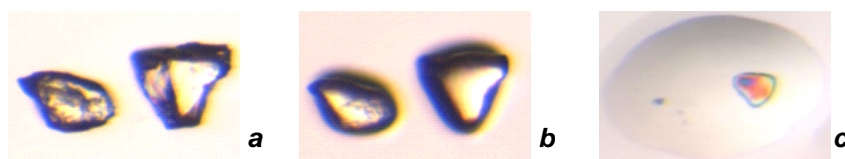
A eficiência de empacotamento para esta forma cristalina é aproximadamente igual (70,0%) ao que se verifica para a forma anidra e substancialmente superior ao observado para o ácido azelaico puro. A densidade é superior ( $1,269 \text{ mg.cm}^{-3}$ ) à que se observa para a forma anidra e ácido azelaico.

A caracterização realizada por CDV-ATG (Figura 2.34) ao sal molecular anidro azelaico:morfolina demonstra que o seu ponto de fusão é inferior ao do ácido azelaico e que não ocorre nenhum fenómeno de transição de fase. O facto de a morfolina ser um líquido poderá contribuir para uma diminuição da estabilidade térmica da forma cristalina. Contudo, o número de interações e distâncias de ligação são superiores ao observado para o ácido azelaico, bem como o índice de empacotamento (70,3%) e densidade ( $1,270 \text{ mg.cm}^{-3}$ ). Estas observações dificultam a relação de todas as propriedades existentes.



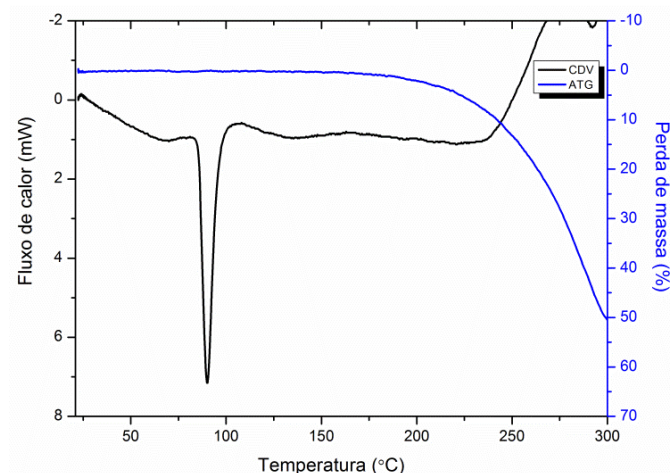
**Figura 2.34** CDV e ATG do sal molecular anidro azelaico:morfolina em que se observa o ponto de fusão a 85,6 °C.

Recorrendo à técnica de termomicroscopia (Figura 2.35) é possível confirmar os resultados obtidos por CDV-ATG.



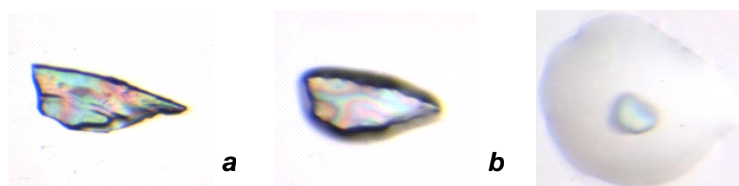
**Figura 2.35** Termomicroscopia para o sal molecular anidro azelaico:morfolina a **a** - 21 °C; **b** - 82,4 °C – começo do processo de fusão e **c** - 85,6 °C – fusão.

Para a forma cristaina do ácido azelaico com o DABCO verifica-se, através da técnica de CDV-ATG (Figura 2.36) que apresenta menor estabilidade térmica comparativamente ao ácido azelaico na sua forma pura, com um ponto de fusão de 89,9°C. Neste caso, as interações O-H...O e N-H...O apresentam algumas distâncias de ligação superiores à que existe no sintão  $R_2^2(8)$  presente no ácido azelaico puro. Ademais, a eficiência de empacotamento é ligeiramente inferior (68,1%) ao observado para o ácido azelaico apresentando, também, uma densidade inferior ( $1,220 \text{ mg.cm}^{-3}$ ). Estas observações suportam, em parte, o resultado da estabilidade térmica observada para esta nova forma cristalina.



**Figura 2.36** CDV e ATG do sal molecular anidro azelaico:DABCO em que se observa o ponto de fusão a 89,9 °C.

Pela técnica de termomicroscopia (Figura 2.37) confirmam-se os resultados experimentais obtidos por CDV-ATG.



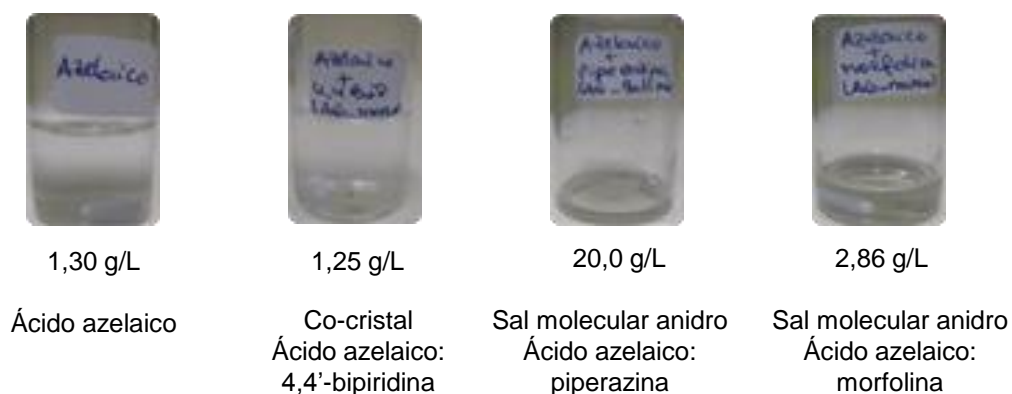
**Figura 2.37** Termomicroscopia para o sal molecular anidro azelaico:DABCO a **a** - 21,6 °C; **b** - 87,7 °C – começo do processo de fusão e **c** - 90,9 °C – fusão completa.

### 2.3.3 Estudos preliminares de solubilidade

Nesta secção serão apresentados e discutidos os estudos preliminares de solubilidade em água realizados ao ácido azelaico na forma pura, co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina e sais moleculares anidros azelaico:piperazina e azelaico:morfolina.

Como se pode observar pela Figura 2.38, a forma sólida cristalina mais solúvel é o sal molecular anidro azelaico:piperazina e a menos solúvel é o co-cristal (apresenta uma solubilidade semelhante à do PFA). A solubilidade do sal molecular anidro azelaico:DABCO também é superior à do PFA. De um modo generalista, é expectável que os sais moleculares sejam mais solúveis em água do que o PFA puro e co-cristal, dado que são mais polares devido à existência de moléculas com carga.





**Figura 2.38** Estudos preliminares de solubilidade em água para o ácido azelaico e formas cristalinas (co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina e sais moleculares anidros azelaico:piperazina e azelaico:morfolina).

A síntese destas novas formas cristalinas multicomponentes revelou ser uma boa estratégia para melhorar as propriedades do ácido azelaico, especificamente a sua solubilidade estando em curso outros estudos para avaliar a sua estabilidade à humidade e tempo (*self stability*).

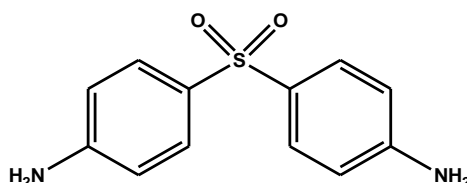


**Capítulo 3. Síntese e caracterização de novos  
co-cristais da dapsona**



### 3.1 Introdução

A 4,4'-diamino-difenilsulfona, mais comumente designada por dapsona (Figura 3.1), é um antibiótico que pertence à classe das sulfonamidas, utilizado no tratamento de doenças como a pneumonia, lepra e Alzheimer.<sup>123-126</sup> Este antibiótico, juntamente com o seu derivado sulfonato de didextrose, foram primeiramente testados, em 1941, no tratamento da lepra em ratos, tendo-se verificado uma evolução regressiva da doença. Posteriormente foram aplicados em testes clínicos, onde os resultados se revelaram positivos no tratamento da patologia.<sup>124, 125</sup>



**Figura 3.1** Estrutura química da dapsona.

Para além da sua potencial aplicação no tratamento destas doenças, a dapsona tem sido reportada como um fármaco útil no tratamento de algumas doenças de pele (acne e rosácea) e desordens de origem autoimune, como a artrite reumatoide.<sup>126</sup> Este PFA encontra-se comercialmente disponível sob a forma de comprimido, numa concentração de 0,402 mmol.dm<sup>-3</sup>, e presente na composição de géis dermatológicos com 5% de concentração.<sup>123, 126</sup> O tratamento das doenças acima referidas, incluindo as do foro dermatológico, é efetuado pela administração de comprimidos, uma vez que a dapsona e seus derivados apesar de possuírem elevada solubilidade em álcool, acetona e solução aquosa de HCl, são praticamente insolúveis em água e óleos. Dada a dificuldade em desenvolver formulações tópicas da dapsona, têm sido utilizados, como alternativa, sais deste PFA e agentes solubilizantes orgânicos (etileno diglicol, éter monoetilico e etanol). Contudo, a utilização de solubilizantes poderá constituir um problema para a saúde da pele, uma vez que os componentes presentes causam desidratação e são responsáveis por remover alguns óleos essenciais à pele.<sup>126</sup>

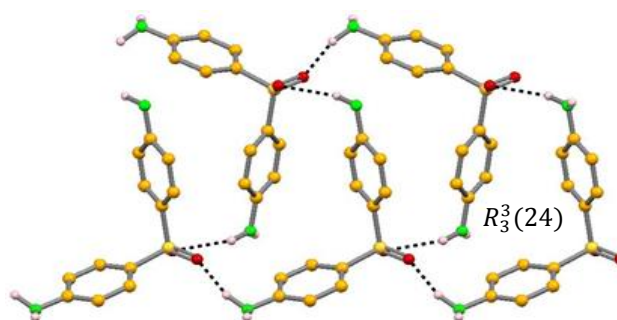
Alguns estudos de estabilidade térmica (CDV e ATD) realizados revelam que a dapsona é estável a temperaturas superiores a 339°C, uma vez que as duas fragmentações moleculares que resultam em perda de massa ocorrem entre os 339,12-393,41°C (com libertação de C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>SO) e entre os 393,41-726,86°C (com libertação de C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O). O ponto de fusão da dapsona situa-se entre os 175 e 181°C.<sup>127</sup>

Relativamente à biodisponibilidade, este PFA é facilmente absorvido pelo trato gastrointestinal em 86%, sendo essa absorção limitada pelo grau da doença. Em pacientes com lepra em estado avançado, esta propriedade é amplamente reduzida.<sup>124</sup> Deste modo, e tendo em consideração ambos os problemas (formulação tópica e biodisponibilidade limitada), o desenvolvimento de novas formas cristalinas da dapsona constitui um objetivo fulcral para a melhoria das suas propriedades físico-químicas, como solubilidade.

A reatividade dos sulfóxidos e, principalmente, das sulfonas, em termos de interações supramoleculares, não é totalmente conhecida. Alguns estudos realizados por Bernstein e colaboradores,<sup>128, 129</sup> e Nangia e colaboradores,<sup>128, 130</sup> revelam que a reatividade destes grupos na síntese de novas formas sólidas reside em interações que envolvem não só os oxigênios dos grupos sulfona e sulfóxido, mas também possíveis hidrogênios  $\alpha$  em relação a esses grupos que, sendo ácidos, possibilitam a formação de pontes de hidrogênio. Zaworotko e colaboradores verificaram ainda a importância do grupo sulfona nos diferentes empacotamentos cristalinos de derivados da 4,4'-diamino-difenilsulfona (bis(4-hidroxifenil)sulfona e 4-clorofenil(4'-hidroxifenil)sulfona).<sup>131</sup>

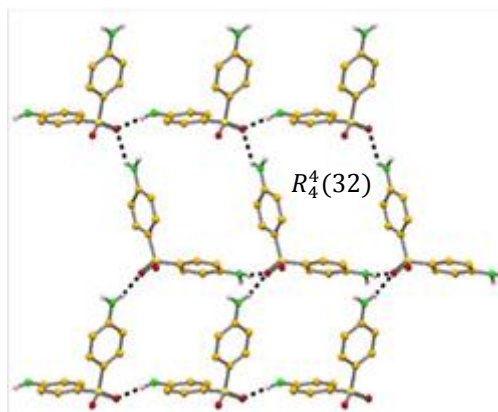
A dapsona não possui formas polimórficas e apenas se conhece a existência de seis formas cristalinas: um hidrato,<sup>132, 133</sup> três solvatos<sup>134</sup> com dioxano, THF e diclorometano, e dois co-cristais com trinitrobenzeno<sup>135</sup> e ácido dinitrobenzóico.<sup>136</sup>

O empacotamento da dapsona consiste em interações do tipo N-H...O (em que o grupo amina atua como doador e o grupo sulfona como aceitador), dando origem ao sintão  $R_3^3(24)$  responsável pela formação de cavidades, como representado na Figura 3.2.



**Figura 3.2** Empacotamento cristalino da dapsona com evidência da cavidade formada pelo sintão  $R_3^3(24)$ .

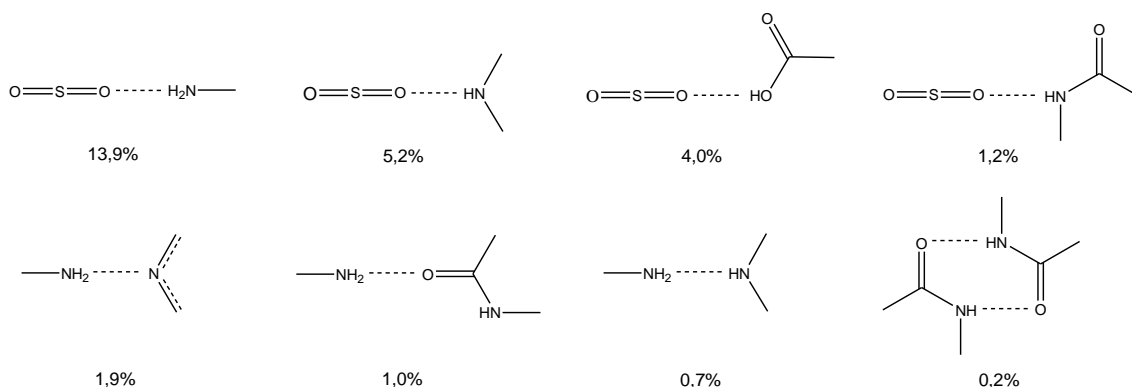
Nos solvatos, a interação N-H...O estabelecida entre as moléculas de dapsona mantém-se, sendo que no caso da forma cristalina com o dioxano, existe uma interação adicional entre o grupo éter do dioxano, que funciona como aceitador, e o grupo amina da dapsona, como doador. Contudo, no que diz respeito ao empacotamento cristalino, o solvato com o diclorometano, apesar de não destruir as cavidades formadas entre as moléculas de dapsona, interfere na dimensão e orientação das mesmas. O sintão  $R_4^4(32)$ , formado no empacotamento do solvato com diclorometano, leva à formação de cavidades com dimensões superiores, como é possível observar pela Figura 3.3.



**Figura 3.3** Empacotamento cristalino da dapsona solvatada com diclorometano com evidência da cavidade formada pelo sintão  $R_4^4(32)$ .

Nos solvatos com dioxano e THF e nos co-cristais com trinitrobenzeno e ácido dinitrobenzóico, as interações ocorrem entre as moléculas de dapsona e são do tipo N-H...O, mas as cavidades são destruídas.

Realizando uma pesquisa na CSD<sup>26</sup> em que se consideram compostos orgânicos com grupos sulfona e amina (presentes na dapsona) e com grupos funcionais presentes nos co-cristalizantes testados, obtém-se um universo de 2622 compostos. Da análise destes resultados resulta que a interação mais provável de se formar é N-H...O=S entre os grupos amina e sulfona (Figura 3.4).



**Figura 3.4** Representação dos sintões mais comuns de se formarem para a dapsona.

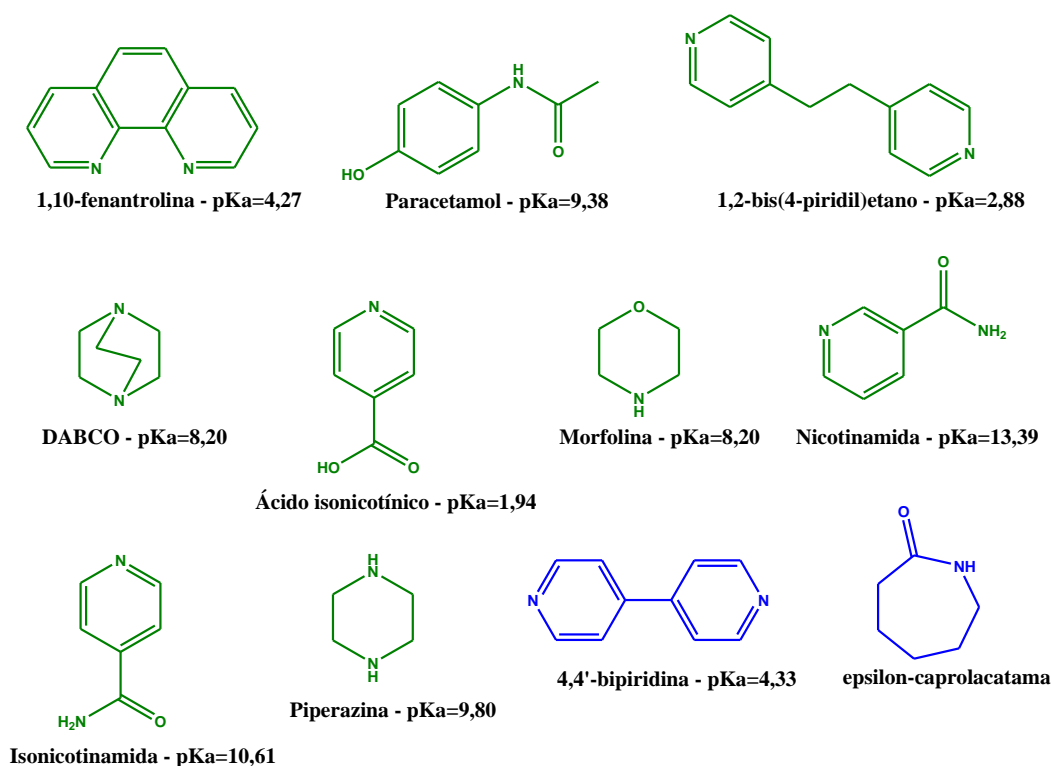
Considerando os estudos anteriormente citados, pretende-se com este trabalho obter novas formas cristalinas de modo a melhorar as propriedades físico-químicas e aprofundar o estudo da reatividade química da dapsona, na presença de aminas aromáticas (1,10-fenantrolina, 1,2-bis(4-piridil)etano e 4,4'-bipiridina), aminas secundárias (morfolina e piperazina), aminas terciárias (1,4-diazobicyclo [2.2.2]octano), amidas secundárias cíclicas ( $\epsilon$ -caprolactama), amidas secundárias (*N*-(4-hidroxifenilo)etanamida), amidas primárias (isonicotinamida e nicotinamida) e ácidos (ácido isonicotínico).

## 3.2 Parte experimental

### 3.2.1 Síntese

Todos os reagentes e solventes foram adquiridos à Sigma-Aldrich e utilizados no processo de síntese sem qualquer purificação adicional.

De modo a sintetizar novas formas cristalinas da dapsona, procedeu-se a vários testes de reatividade utilizando diferentes co-cristalizantes (com diferentes grupos funcionais), que se encontram representados na Figura 3.5 com os respetivos valores de pKa.



**Figura 3.5** Lista de compostos utilizados para a síntese de novas formas cristalinas com dapsona: A verde – co-cristalizantes que não reagiram; a azul – co-cristalizantes que reagiram.

O método da co-cristalização em solução foi aplicado a todos os co-cristalizantes com a dapsona, de modo a averiguar a reatividade da mesma para os diferentes grupos funcionais. Para os co-cristalizantes promissores, foi ainda utilizada a técnica de moagem assistida por solvente no moinho de bolas e no almofariz. Na Tabela 3.1 encontram-se apresentadas as condições experimentais utilizadas nas sínteses que não ocorreram com sucesso.

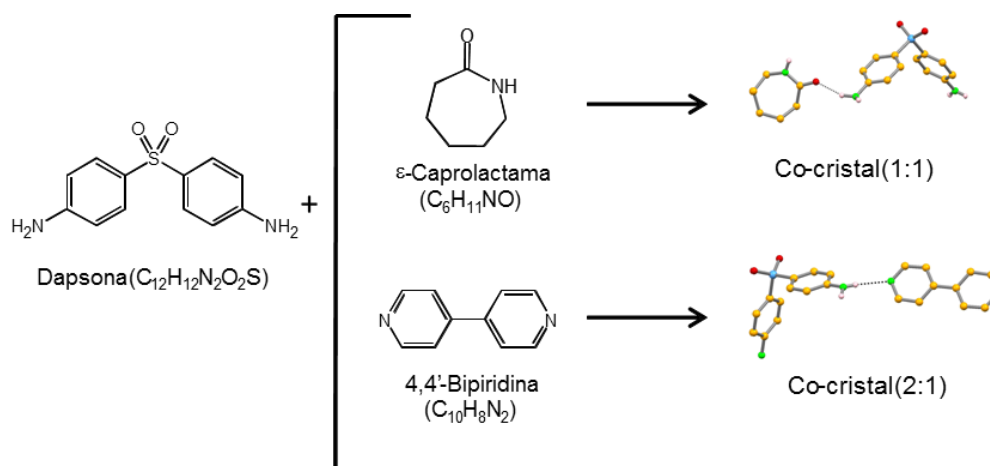


**Tabela 3.1** Condições experimentais aplicadas à dapsona e co-cristalizantes testados.

Co-cristalizante	Solvente	V (mL)	Quantidade e concentração de co-cristalizante (mg (mmol))	Quantidade e concentração de dapsona (mg (mmol))	Tempo de agitação (min)	Aquecimento (45°C)
1,10 - Fenantrolina	Etanol+acetona	2+1	50,6 (0,2779)	69,7 (0,2807)	10	Não
1,2-Bis(4-piridil)etano	Etanol+acetona	2+1	51,6 (0,2801)	69,4 (0,2795)	10	Sim
Morfolina	Acetona	2	31,3 (0,3593)	89,1 (0,3588)	10	Não
Ácido isonicotínico	Etanol+acetona	3+2	39,8 (0,3233)	81,1 (0,3266)	10	Sim
Isonicotinamida	Etanol+acetona	2+1	39,6 (0,3243)	80,4 (0,3243)	10	Sim
DABCO	Etanol+acetona	2+1	38,1 (0,3397)	83,2 (0,3351)	10	Não
Piperazina	Etanol+acetona	2+1	32,4 (0,3761)	89,3 (0,3596)	10	Sim
Nicotinamida	Etanol+acetona	2+1	40,0 (0,3275)	80,8 (0,3254)	10	Sim
Paracetamol	Etanol+acetona	3+1	45,4 (0,3003)	74,6 (0,3004)	10	Não

Para os co-cristalizantes que reagiram com a dapsona serão apresentadas, detalhadamente, as condições experimentais utilizadas.

Na Figura 3.6 encontram-se representados os produtos obtidos para a reação da dapsona com a  $\epsilon$ -caprolactama e 4,4'-bipiridina com as respectivas estequiometrias.



**Figura 3.6** Representação dos produtos finais obtidos e respectivas estequiometrias, a partir da reação da dapsona com os co-cristalizantes  $\epsilon$ -caprolactama e 4,4'-bipiridina.

### Síntese do co-cristal dapsona: $\epsilon$ -caprolactama

Solução etanol:água: Foram dissolvidos, numa mistura de 2 mL de etanol com 2 mL de acetona (2:1), 83,0 mg (0,3343 mmol) de dapsona e 43,7 mg (0,3862 mmol) de  $\epsilon$ -caprolactama. A solução permaneceu em agitação durante 10 min à temperatura ambiente (aproximadamente 18°C). Após dissolução completa dos reagentes, o recipiente foi selado com *parafilm* furado e foi deixado a cristalizar por evaporação lenta do solvente. A formação de cristais incolores, sob a forma de placas, foi detetada após três dias. Os cristais foram

analisados por DRXP, DRXMC e IV e a estabilidade térmica estudada por CDV-ATG e termomicroscopia.

Moagem assistida por solvente - etanol: Procedeu-se à moagem da mistura de 206,6 mg (0,8321 mmol) de dapsona com 94,7 mg (0,8370 mmol) de  $\epsilon$ -caprolactama na presença de 30  $\mu$ L de etanol, durante 20 min, com recurso ao moinho de bolas. A análise do produto foi efetuada por DRXP, confirmando-se a formação do co-cristal.

### **Síntese do co-cristal dapsona:4,4'-bipiridina**

Solução etanol:água: 74,1 mg (0,2984 mmol) de dapsona e 46,4 mg (0,2798 mmol) de 4,4'-bipiridina foram dissolvidos numa mistura de 2 mL de etanol com 2 mL de acetona (2:1). A solução foi deixada sob agitação durante 10 min à temperatura ambiente (aproximadamente 18°C) e, após dissolução completa dos reagentes, permaneceu em repouso selada com *parafilm* furado para promover uma evaporação lenta. Após três dias, verificou-se a evaporação completa do solvente, com formação de cristais sob a forma de agulhas. Os cristais foram analisados por DRXP, DRXMC e IV. A estabilidade térmica foi estudada com recurso ao CDV-ATG e termomicroscopia.

Moagem assistida por solvente - etanol: 185,2 mg (0,7459 mmol) de dapsona e 116,0 mg (0,7427 mmol) de 4,4'-bipiridina foram moídos em 30  $\mu$ L de etanol durante 20 min num moinho de bolas tendo-se procedido, posteriormente, à análise do produto resultante por DRXP, constatando-se a formação de um novo produto.

### **3.2.2 Detalhes de caracterização**

Todos os produtos obtidos foram analisados por DRXP e DRXMC sempre que possível. A estabilidade térmica foi avaliada por CDV-ATG e por termomicroscopia. Foi utilizado o IV como técnica complementar de caracterização.

Os dados de difração de raios-X de monocristal foram sempre recolhidos num difratómetro Bruker APEX II a 150 K. O gerador de raios-X operou a 50 kV e 30 mA e a recolha de dados foi monitorizada pelo programa APEX2. Os dados foram corrigidos para os efeitos de Lorentz, de polarização e de absorção, com recurso aos programas SAINT e SADABS.

Os dados de difração de póis foram recolhidos num difratómetro D8 Advance Bruker AXS  $\theta$ -2 $\theta$ , com radiação em cobre (Cu K $\alpha$ ,  $\lambda$ =1.5406 Å) e um monocromador secundário, operado a 40 Kv e 40 mA. Estudos de difração de raios-X com variação de temperatura foram efetuados com uma câmara Anton Paar HTK 16N e um controlador de temperatura unitário Anton Paar TCU 2000N

Os espectros de IV foram obtidos num espectrómetro Nexus-Thermo Nicolet (64 scans e resolução de 4 cm<sup>-1</sup>) numa gama de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>. As amostras foram diluídas em KBr (1:100 em peso).

As medidas de ATG e CDV foram realizadas numa termobalança SETARAM TG-DTA 92 sob fluxo e com uma velocidade de aquecimento de  $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ . Os pesos das amostras estavam compreendidos entre os 5 e os 10 mg.

As experiências de termomicroscopia foram efetuadas utilizando um aparelho Linkam TP94. As imagens foram recolhidas através do programa de imagem Cell, com um estereomicroscópio Olympus SZX10

### Difração de raios-X de mono cristal (DRXMC)

Todos os átomos, com exceção dos hidrogénios, foram refinados anisotropicamente.

Os átomos de hidrogénio no grupo amida da  $\epsilon$ -caprolactama e no grupo amina da dapsona foram localizados a partir do mapa de densidades eletrónicas e posteriormente refinados. Os restantes átomos de hidrogénio foram introduzidos em posições calculadas e refinados no carbono respetivo.

Os dados recolhidos, bem como os detalhes de refinamento de cada estrutura cristalina, encontram-se listados na Tabela 3.2.

**Tabela 3.2** Detalhes cristalográficos dos compostos: co-cristal dapsona: $\epsilon$ -caprolactama e co-cristal dapsona:4,4'-bipiridina.

	Co-cristal Dapsona: $\epsilon$ -caprolactama	Co-cristal Dapsona:4,4'-bipiridina
Fórmula química	$\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$	$\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$
$M_r$	361,46	326,40
Temperatura/K	150	150
Comprimento de onda (Å)	0,71073	0,71073
Morfologia, cor	Placas, sem cor	Agulhas, sem cor
Tamanho do cristal/mm	0,10 X 0,06 X 0,05	0,23 X 0,04 X 0,02
Sistema cristalino	Monoclínico	Monoclínico
Grupo espacial	P 2 <sub>1</sub> /c	P 2 <sub>1</sub> /n
$a/\text{Å}$	8,2700(6)	5,8451(3)
$b/\text{Å}$	37,058(3)	7,7034(4)
$c/\text{Å}$	5,9595(4)	34,6478(16)
$\alpha/^{\circ}$	90,00	90,00
$\beta/^{\circ}$	99,089(4)	91,116(2)
$\gamma/^{\circ}$	90,00	90,00
$V/\text{Å}^3$	1803,5(2)	15559,80(13)
$Z$	4	4
Densidade/ $\text{mg}\cdot\text{cm}^{-3}$	1,331	1,390
Coeficiente de absorção/ $\text{mm}^{-1}$	0,202	0,221
$\theta$ min ( $^{\circ}$ )	2,49	2,35
$\theta$ max ( $^{\circ}$ )	28,16	30,290
Reflexões recolhidas/únicas	16909/4415	18138/4668
$R_{\text{int}}$	0,0982	0,0555
GoF	0,951	1,057
Limite do desvio padrão das intensidades	$>2\sigma(I)$	$>2\sigma(I)$
$R_1$ (observado)	0,0581	0,0498
$w R_2$ (total)	0,1003	0,1236

### 3.3 Apresentação e discussão de resultados

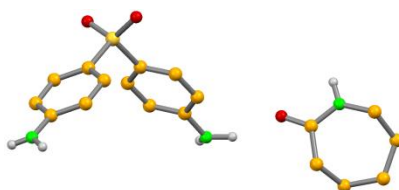
Neste subcapítulo serão apresentados todos os resultados experimentais obtidos por DRXP, DRXMC, IV, CDV-ATG e termomicroscopia, e será apresentada uma discussão sobre esses resultados. A relação estrutura-propriedade é também discutida.

Os detalhes sobre as distâncias de ligação e ângulos obtidos a partir da DRXMC serão apresentados na Tabela 3.3 (fim da seção da caracterização estrutural).

#### 3.3.1 Caracterização estrutural

##### 3.3.1.1 Caracterização estrutural do co-cristal dapsona: $\epsilon$ -caprolactama

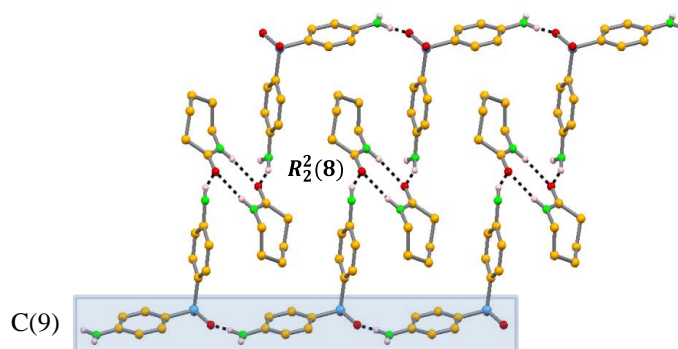
A reação supramolecular da dapsona com a  $\epsilon$ -caprolactama conduz à formação de um co-cristal uma vez que não existe transferência protônica entre as duas espécies, fundamentada pela inexistência de grupos funcionais passíveis de promover esse fenómeno (apesar do grupo amina poder funcionar como nucleófilo, não existe um eletrófilo). Esta forma cristalina é obtida no grupo espacial monoclinico  $P2_1/c$  e a unidade assimétrica é constituída por uma molécula de dapsona e uma molécula de  $\epsilon$ -caprolactama (estequiometria 1:1) (Figura 3.7).



**Figura 3.7** Representação da unidade assimétrica: uma molécula de dapsona e uma molécula de  $\epsilon$ -caprolactama.

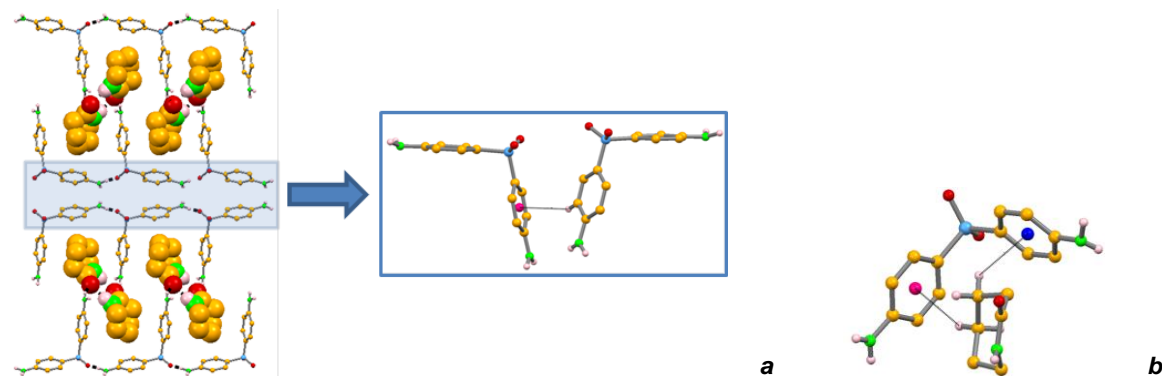
As interações supramoleculares envolvidas no empacotamento cristalino baseiam-se em pontes de hidrogénio do tipo  $N_{NH_2} \cdots O_{SO_2}$  (2.24(3) Å), em que um dos hidrogénios do grupo amina da dapsona atua como doador e o oxigénio do grupo sulfona da dapsona, como aceitador;  $N_{NH_2} \cdots O_{CONH}$  (1.98(3) Å) em que o hidrogénio do outro grupo amina da dapsona atua como doador e o oxigénio do grupo amida da  $\epsilon$ -caprolactama, como aceitador, e  $N_{CONH} \cdots O_{CONH}$  (2.06(3) Å) onde os grupos amidas de duas moléculas de  $\epsilon$ -caprolactama (em que uma resulta da aplicação de um eixo inversão na outra) formam entre si o sintão  $R_2^2(8)$ . Como se pode observar pela Figura 3.8, este sintão relaciona-se com o resto da estrutura através do carácter duplo aceitador do oxigénio do grupo amida da  $\epsilon$ -caprolactama que interatua com os sintões  $N_{NH_2} \cdots O_{CONH}$  e com outra molécula de  $\epsilon$ -caprolactama. Avaliando o tipo de interações que ocorrem na dapsona livre, verifica-se neste caso que as típicas cavidades formadas pelas sintões  $N_{NH_2} \cdots O_{SO_2}$  são destruídas pela interação que se estabelece entre o grupo amina da dapsona e amida da  $\epsilon$ -caprolactama. Contudo, as moléculas de dapsona mantêm a ligação de hidrogénio  $N-H \cdots O$  entre elas (como acontece no empacotamento da dapsona livre) numa das

extremidades do grupo fenilamina, levando à formação de uma cadeia unidimensional baseada em sintões C(9) (Figura 3.8).



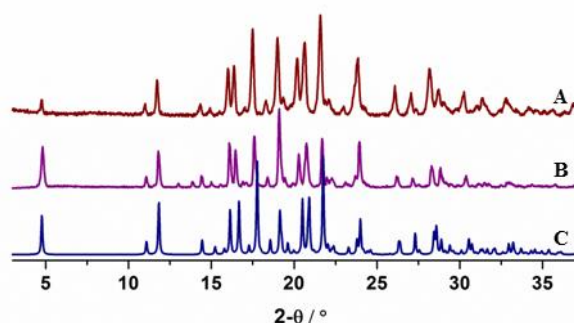
**Figura 3.8** Representação do empacotamento cristalino do co-cristal dapsona:ε-caprolactama. Visualização segundo *a* evidencia a formação do sintão  $R_2^2(8)$  estabelecido entre as moléculas de ε-caprolactama e o crescimento da cadeia C(9), formada por moléculas de dapsona.

Estas cadeias de dapsona formam “fitas” segundo *a* conectadas entre si através de interações C-H<sub>dapsona</sub>...π<sub>dapsona</sub> fracas [C-H<sub>dapsona</sub>...Cg(2) 2.72 Å] (Figura 3.9a). Adicionalmente, a ε-caprolactama também estabelece interações com os anéis aromáticos da dapsona [C-H<sub>caprolactama</sub>...Cg(1) 2.85 Å e C-H<sub>caprolactama</sub>...Cg(2) 2.77 Å] (Figura 3.9b), sendo responsável pelo crescimento ao longo de *c*.



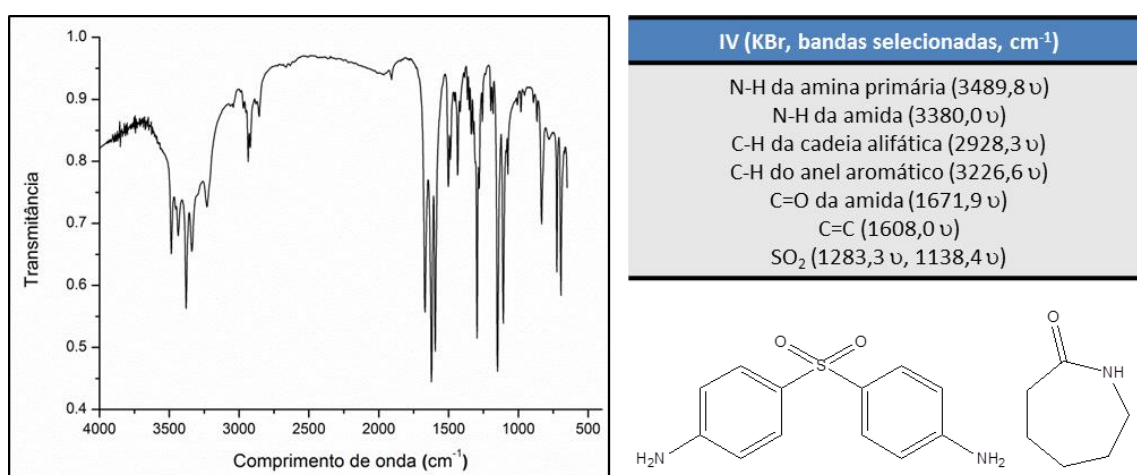
**Figura 3.9** Representação do empacotamento cristalino do co-cristal dapsona:ε-caprolactama: **a** - evidência para a conexão das cadeias C(9) de dapsona medeada pela interação C-H...π estabelecida entre as moléculas de dapsona; **b** – detalhe da interação C-H...π estabelecida entre as moléculas de ε-caprolactama e dapsona.

Comparando os difratogramas obtidos experimentalmente a partir das amostras provenientes dos processos de co-cristalização em solução e moagem assistida por solvente no moinho de bolas, com o difratograma teoricamente calculado, verifica-se que o produto obtido é o co-cristal dapsona:ε-caprolactama (Figura 3.10).



**Figura 3.10** Difrátogramas experimentais de DRXP para o co-cristal dapsona:ε-caprolactama obtidos a partir de: **A** - solução; **B** - moagem assistida por solvente num moinho de bolas; sobrepostos com **C** - difratograma teoricamente obtido.

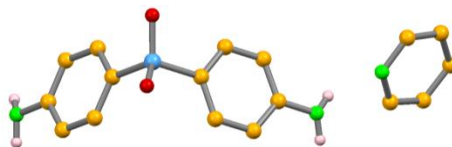
Recorrendo à técnica de IV foi possível identificar todos os grupos funcionais presentes em cada componente, especialmente as bandas características do grupo S=O (Figura 3.11). Contudo, devido à similaridade das interações intermoleculares entre as moléculas de dapsona (na dapsona livre), não foi possível tirar conclusões relativamente ao tipo de forma cristalina obtido.



**Figura 3.11** Espectro de IV do co-cristal dapsona:ε-caprolactama, com a respetiva atribuição das bandas típicas dos grupos funcionais presentes em cada molécula.

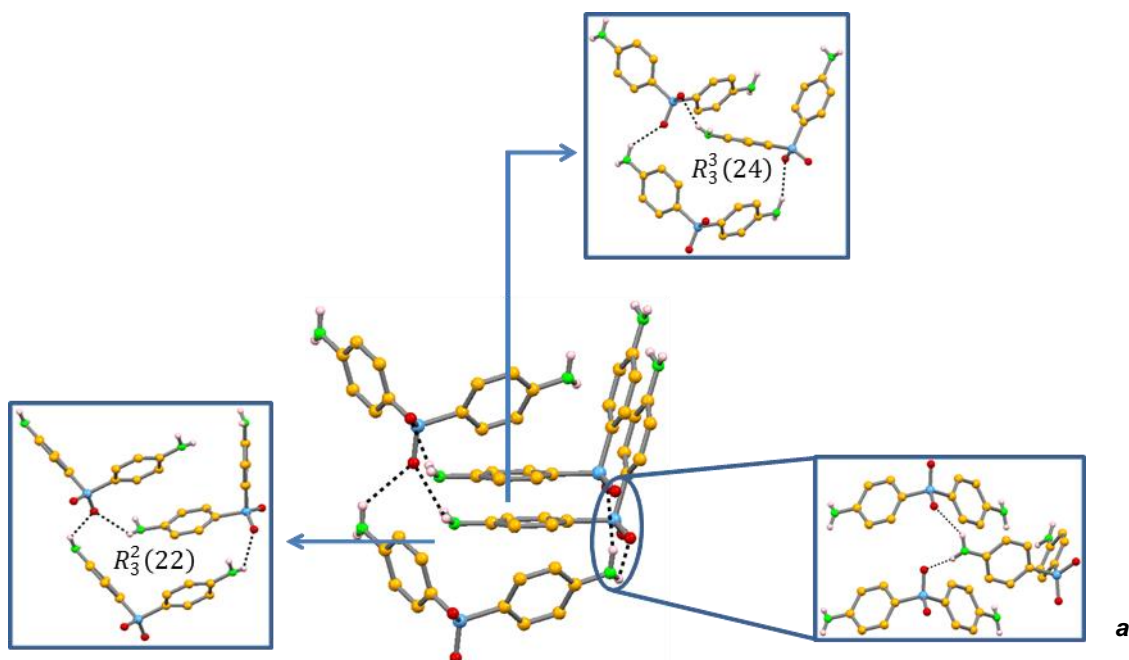
### 3.3.1.2 Caracterização estrutural do co-cristal dapsona:4,4'-bipiridina

Fazendo reagir a dapsona com a 4,4'-bipiridina obtém-se, analogamente ao que se verificou no sistema anterior, um co-cristal pelos motivos já mencionados anteriormente. Este co-cristal, que possui uma estequiometria de 2:1, é obtido no grupo espacial P2<sub>1</sub>/n sendo a unidade assimétrica constituída por uma molécula de dapsona e metade de uma molécula de 4,4'-bipiridina, devido à existência de um eixo de inversão na ligação C-C responsável pela conexão das duas moléculas de piridina (Figura 3.12).

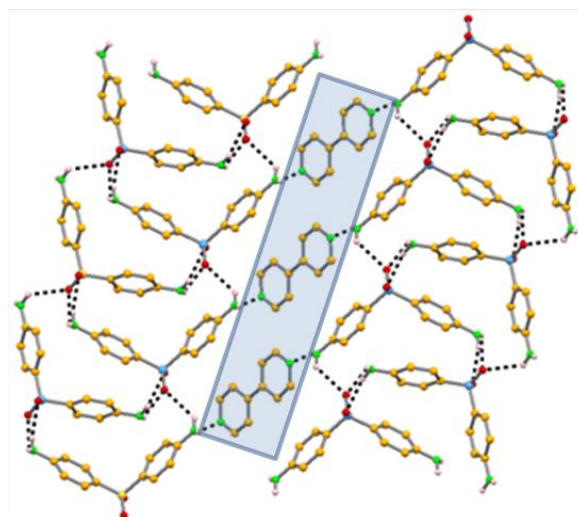


**Figura 3.12** Representação da unidade assimétrica: uma molécula de dapsona e meia molécula de 4,4'-bipiridina.

Neste co-cristal um grupo amina da dapsona interatua exclusivamente com o grupo sulfona de duas moléculas de dapsona simetricamente relacionadas [ $N_{NH_2} \cdots O_{SO_2}$  3,118(2) e 3,184(2) Å] enquanto outro grupo amina interatua com uma quarta molécula de dapsona [ $N_{NH_2} \cdots O_{SO_2}$  3,082(2) Å] que estabelece interações com o co-cristalizante [ $N_{NH_2} \cdots N_{piridina}$  3,051(2) Å]. Um dos átomos de oxigénio do grupo sulfona atua como duplo aceitador. As interações [ $N_{NH_2} \cdots N_{piridina}$  3,051(2) Å] existentes entre as moléculas de dapsona permitem a formação dos sintões  $R_3^2(22)$  e  $R_3^3(24)$  a partir dos quais ocorre formação de cavidades (Figura 3.13a). No empacotamento da dapsona pura, os átomos de oxigénio são aceitadores simples em interações  $N_{NH_2} \cdots O_{SO_2}$  permitindo, também, a formação do sintão  $R_3^3(24)$ , enquanto nos co-cristais com trinitrobenzeno e ácido 3,5-dinitrobenzóico as interações diretas entre as moléculas de dapsona são substituídas por interações preferenciais com os átomos de oxigénio dos grupos nitro e carboxílico, levando à rutura do sintão  $R_3^3(24)$ . A formação do co-cristal é estabelecida segundo as interações  $N_{NH_2} \cdots N_{piridina}$  que permitem o crescimento de canais de moléculas de 4,4'-bipiridina intercalados com cavidades formadas por moléculas de dapsona (Figura 3.13b).



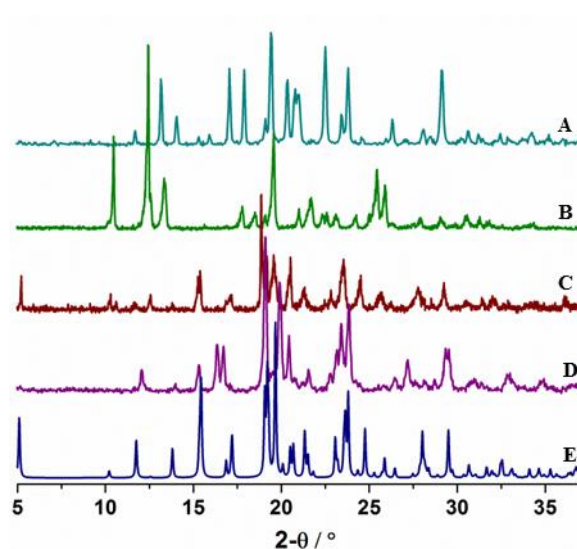




**b**

**Figura 3.13** Representação do empacotamento cristalino do co-cristal dapsona:4,4'-bipiridina: **a** – evidência das interações estabelecidas entre as moléculas de dapsona, levando à formação de cavidades delimitadas pelos sintões  $R_3^2(22)$  e  $R_3^3(24)$ ; **b** – visualização segundo *a* com evidência para a formação de canais de moléculas 4,4'-bipiridina que interatuam com as cavidades formadas pelas moléculas de dapsona.

Comparando os difratogramas de pós obtidos experimentalmente com os previstos teoricamente (Figura 3.14), verifica-se que pelo método de moagem assistida por solvente (no moinho de bolas) se obtém uma mistura do co-cristal com outra forma que não se conseguiu ainda identificar.

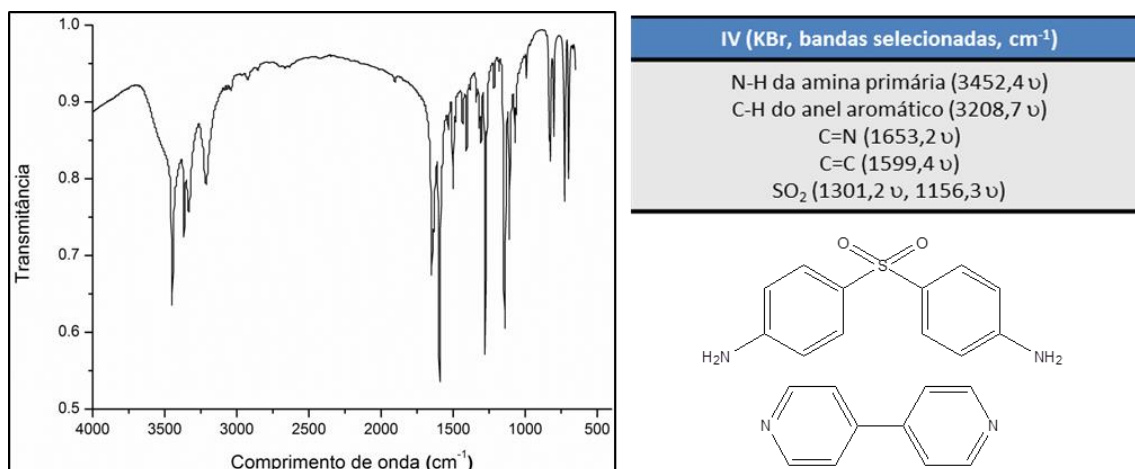


**Figura 3.14** Difratogramas experimentais de DRXP para: **A** - dapsona; **B** - 4,4'-bipiridina; co-cristal dapsona:4,4'-bipiridina obtido a partir de **C** - solução; **D** - moagem assistida por solvente num moinho de bolas; sobrepostos com **E** - difratograma teoricamente obtido.

Analogamente ao que se verificou para o co-cristal anterior, também o espectro de IV da dapsona:4,4'-bipiridina não permite concluir sobre a natureza da forma cristalina sintetizada



identificando-se, apenas, as bandas correspondentes aos grupos funcionais presentes em cada constituinte (Figura 3.15).



**Figura 3.15** Espectro de IV do co-cristal dapsona:4,4'-bipiridina, com a respetiva atribuição das bandas típicas dos grupos funcionais presentes em cada molécula.

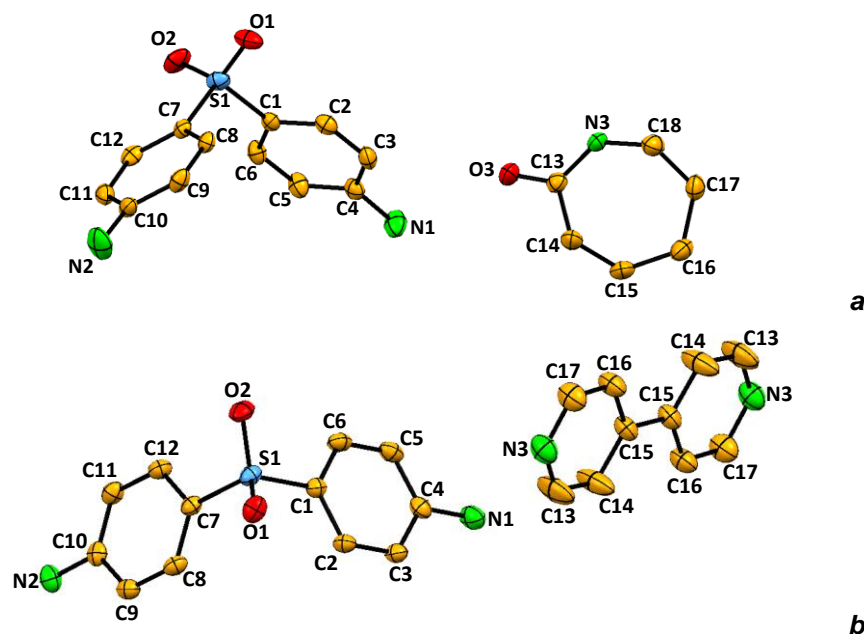
**Tabela 3.3** Distâncias das ligações de hidrogénio e ângulos para os novos co-cristais.

Estrutura	Operação de simetria	D—H...A	<i>d</i> (D—H) (Å)	<i>d</i> (H...A) (Å)	<i>d</i> (D...A) (Å)	DHA (°)
<b>Co-cristal Dapsona:ε-caprolactama</b>	1 + x, y, z	N <sub>NH2</sub> ...O <sub>SO2</sub>	0,89(3)	2,24(3)	3,055(3)	151(3)
	1 - x, - y, 2 - z	N <sub>NH2</sub> ...O <sub>CONH</sub>	0,98(3)	1,98(3)	2,920(3)	158(2)
	1 - x, - y, 2 - z	N <sub>CONH</sub> ...O <sub>CONH</sub>	0,88(3)	2,06(3)	2,940(3)	174(3)
	1 + x, y, 1 + z	CH <sub>ε-capro</sub> ...Cg(1) <sup>*</sup>	0,97	2,85	3,649(3)	141
	1 + x, y, 1 + z	CH <sub>ε-capro</sub> ...Cg(2) <sup>**</sup>	0,97	2,77	3,669(3)	154
	x, 1/2 - y, -1/2 + z	CH <sub>dapsona</sub> ...Cg(2)	0,93	2,72	3,411(3)	132
<b>Co-cristal Dapsona:4,4'-bipiridina</b>	1/2 - x, 1/2 + y, 1/2 - z	N <sub>NH2</sub> ...O <sub>SO2</sub>	0,88(2)	2,50(2)	3,118(2)	128,1(19)
	1/2 - x, 1/2 + y, 1/2 - z	N <sub>NH2</sub> ...O <sub>SO2</sub>	0,87(2)	2,35(2)	3,184(2)	161(2)
	x, y, z	N <sub>NH2</sub> ...N <sub>piridina</sub>	0,83(2)	2,29(2)	3,051(2)	155(2)
	x, 1 + y, z	N <sub>NH2</sub> ...O <sub>SO2</sub>	0,85(2)	2,46(2)	3,082(2)	131,0(18)

\*anel aromático da dapsona C1-C6; \*\* anel aromático da dapsona C7-C12

### 3.3.1.3 Ângulos de rotação

A molécula de dapsona apresenta uma simetria C<sub>2v</sub> mas, em estruturas similares, apresenta um desvio significativo da geometria ideal, observado nos ângulos de torsão C-C-S=O.<sup>134-136</sup> Não obstante o intervalo de valores de 17,7(2) a 28,8(2)°, para o co-cristal dapsona: ε-caprolactama (Figura 3.16a) e de 17,8(1) e 33,0(1)° para o co-cristal dapsona:4,4'-bipiridina (Figura 3.16b), evidencia que as ligações de hidrogénio intermoleculares estabelecidas entre os co-cristalizantes possibilitam a normalização da rotação dos grupos fenilos relativamente ao grupo SO<sub>2</sub> na molécula de dapsona (de 8,5(3) a 37,4(3)°) (Tabela 3.4).



**Figura 3.16** Diagramas moleculares dos co-cristais dapsona:ε-caprolactama **a** e dapsona:4,4'-bipiridina **b** com atribuição atômica. Os elipsóides foram desenhados com 50% de probabilidade.

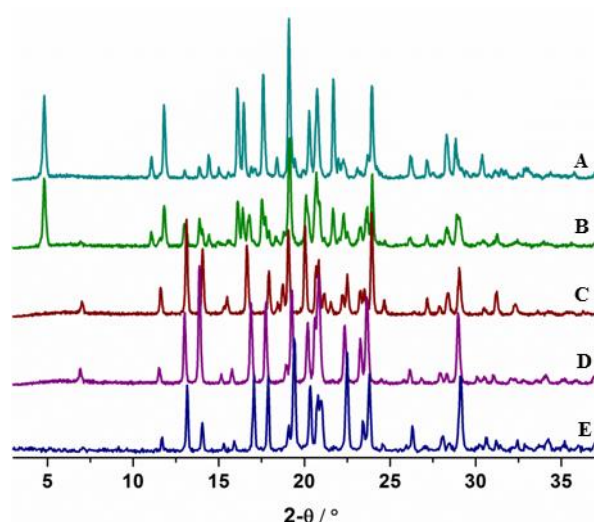
**Tabela 3.4** Ângulos de torção da dapsona e novos co-cristais sintetizados.

	Átomos	Ângulos de torção
Dapsona	C2C1S1O1	37,4(3) <sup>o</sup>
	C6C1S1O2	-8,5(3) <sup>o</sup>
	C8C7S1O1	-31,0(3) <sup>o</sup>
	C12C7S1O2	21,0(3) <sup>o</sup>
Co-cristal dapsona: ε-caprolactama	C2C1S1O2	28,7(2) <sup>o</sup>
	C6C1S1O1	-20,0(2) <sup>o</sup>
	C8C7S1O2	-17,7(2) <sup>o</sup>
	C12C7S1O1	28,8(2) <sup>o</sup>
Co-cristal dapsona:4,4'-bipiridina	C2C1S1O2	17,8(1) <sup>o</sup>
	C6C1S1O1	-33,0(1) <sup>o</sup>
	C8C7S1O2	-24,6(1) <sup>o</sup>
	C12C7S1O1	28,1(1) <sup>o</sup>

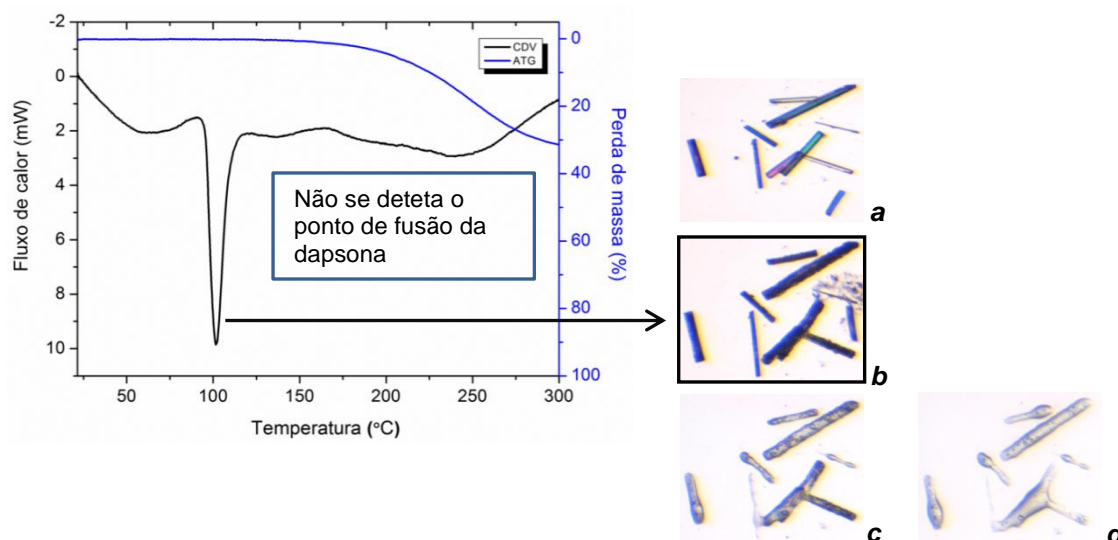
### 3.3.2 Caraterização térmica e estudos de solubilidade

A estabilidade térmica dos co-cristais sintetizados foi avaliada através da combinação de diferentes técnicas: DRXP com variação de temperatura (DRXP-VT), CDV-ATG e termomicroscopia.

Para o co-cristal dapsona:ε-caprolactama deteta-se uma transição de fase através de DRXP-VT (Figura 3.17), CDV-ATG e termomicroscopia (Figura 3.18) entre os 90 e 120°C. O padrão de difração recolhido a 110°C evidencia, claramente, que apenas existe dapsona, significando que as moléculas de ε-caprolactama se libertaram da estrutura cristalina.

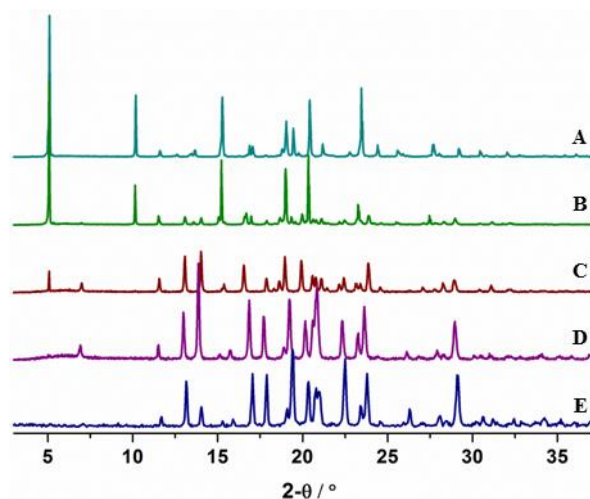


**Figura 3.17** Difrátogramas experimentais de DRXP para o co-cristal dapsona:ε-caprolactama a diferentes temperaturas: **A** - 30°C; **B** - 80°C; **C** - 110°C; **D** - 30°C após arrefecimento; **E** - dapsona na forma pura.

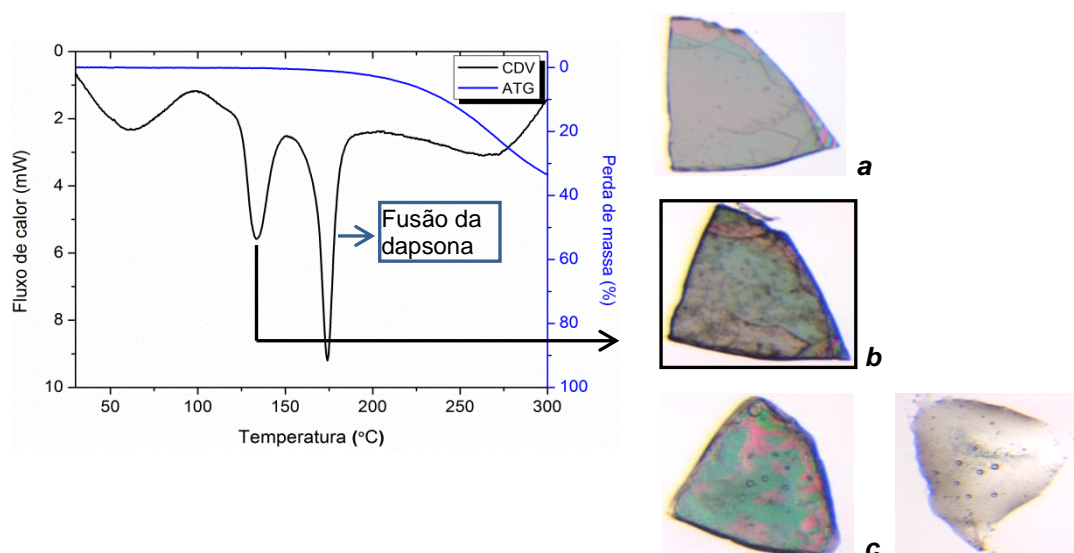


**Figura 3.18** CDV-ATG do co-cristal dapsona:ε-caprolactama com destaque para o pico correspondente à transição de fase a 106,6°C. As imagens de termomicroscopia foram recolhidas a diferentes temperaturas: **a** - 25,3°C; **b** - 106,6°C; **c** - 179,1°C – começo do processo de fusão e **d** - 182,3°C - fusão.

Através de ensaios de DRXP-VT com o co-cristal dapsona:4,4'-bipiridina, ilustrado na Figura 3.19, verifica-se uma transição de fase a aproximadamente 145°C, caracterizada pelo colapso do co-cristal com libertação de moléculas de 4,4'-bipiridina, levando à reorganização das moléculas de dapsona pura. Esta transição de fase também é visível pelas técnicas de CDV-ATG e termomicroscopia (Figura 3.20).



**Figura 3.19** Difratogramas experimentais de DRXP para o co-cristal dapsona:4,4'-bipiridina a diferentes temperaturas: **A** - 30°C; **B** - 120°C; **C** - 145°C; **D** - 30°C após arrefecimento; **E** - dapsona na forma pura.



**Figura 3.20** CDV-ATG do co-cristal dapsona:4,4'-bipiridina com destaque para o pico correspondente à transição de fase a 144,2°C. As imagens de termomicroscopia foram recolhidas a diferentes temperaturas: **a** - 26,5°C; **b** - 144,2°C; **c** - 171,3°C – começo do processo de fusão e **d** - 173,5°C - fusão.

Uma possível justificação para a ocorrência desta transição de fase poderá estar na curta distância de ligação  $N_{NH_2} \cdots N_{piridina}$  presente no empacotamento cristalino e na existência de canais de 4,4'-bipiridina que permitem uma maior facilidade na quebra das interações.

Foram realizados estudos preliminares de solubilidade tendo-se constatado que não houve melhorias significativas desta propriedade, uma vez que não foi possível solubilizar 5 mg de cada co-cristal em 12 mL de água, corroborando-se que a solubilidade do co-cristal é inferior a 0,42 g/L.

### **3.3.3 Relação estrutura - propriedade**

Sabe-se que as propriedades das formas cristalinas resultam da ponderação de vários fatores como a eficiência do empacotamento cristalino, força das ligações de hidrogénio, energia e densidade.

Os co-cristais dapsona:ε-caprolactama e dapsona:4,4'-bipiridina são estáveis termicamente até às temperaturas de aproximadamente 110 °C e 145°C, respetivamente. Acima destas temperaturas, os co-cristais convertem para os materiais de partida. Comparando a estabilidade térmica de ambas as formas é possível observar que o co-cristal com ε-caprolactama possui uma transição de fase a uma temperatura mais baixa do que o co-cristal com 4,4'-bipiridina. Estes comportamentos são expectáveis tendo em consideração os pontos de fusão dos co-cristalizantes (62,9°C para a ε-caprolactama e 110-114°C para a 4,4'-bipiridina), similarmente ao que é observado para os pontos de ebulição dos solvatos reportados por Lemmer e colaboradores.<sup>134</sup> Relativamente à eficiência do empacotamento, verifica-se uma ocupação de 67,7% para a dapsona que é melhorada pela formação dos cocrystal (68,3% para o co-cristal com ε-caprolactama e 69,3% para o co-cristal com 4,4'-bipiridina).



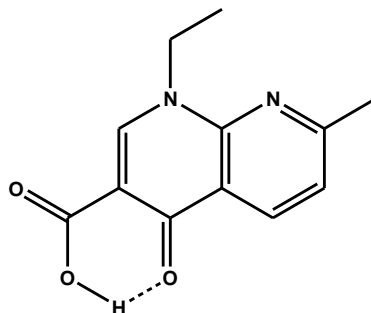
**Capítulo 4. Ácido nalidíxico – Rastreo**  
**da reatividade molecular**





## 4.1 Introdução

O ácido nalidíxico, ou ácido 1-etilo-1,4-dihidro-7-metilo-4-oxo-1,8-naftiridina-3-carboxílico (Figura 4.1), é um antibiótico que pertence à classe das quinolonas e foi um dos primeiros fármacos a ser utilizado no tratamento de doenças urinárias (1960).<sup>137</sup> O seu modo de atuação consiste em destruir organismos Gram-negativos (responsáveis pelas infecções urinárias), inibindo a síntese de DNA, e levando, posteriormente, à apoptose das células.<sup>137-140</sup>



**Figura 4.1** Estrutura química do ácido nalidíxico.

Este fármaco encontra-se disponível comercialmente sob a forma de comprimido. As suas dosagens diárias podem ir de 0,5 a 4g e o seu número de dose é 20. As elevadas concentrações de ácido nalidíxico presentes na urina fazem deste um fármaco por excelência no tratamento de infecções urinárias.<sup>137</sup> A biodisponibilidade deste fármaco ronda os 50%,<sup>141</sup> possui um pKa de 5,9 e o seu ponto de fusão situa-se entre os 225 e 231°C.<sup>142</sup>

Dois dos problemas do ácido nalidíxico centralizam-se na muito fraca solubilidade que apresenta em água, inferior a 0,1 g/L, e reduzida velocidade de dissolução.<sup>142</sup> Estas limitações impedem que este fármaco seja aplicado no tratamento de infecções sistémicas.<sup>138</sup> Sabe-se que os fármacos que possuem baixa solubilidade em água também exibem baixa absorvidade e biodisponibilidade.<sup>143</sup> Nesse sentido, foi desenvolvida recentemente uma técnica por Sekiguchi e colaboradores com a finalidade de melhorar a solubilidade e velocidade de dissolução dos fármacos. Essa técnica, denominada por dispersões sólidas, consiste em modificar as propriedades físicas dos fármacos com baixa solubilidade em água (neste caso o ácido nalidíxico), melhorando a velocidade de dissolução com recurso a portadores solúveis em água como a polivinilpirrolidona e  $\beta$ -ciclodextrina. Estes portadores interferem com o estado cristalino do fármaco, tornando-o amorfo, o que constitui uma desvantagem na utilização desta técnica porque, como se sabe, as formas amorfas possuem maior instabilidade termodinâmica do que as formas cristalinas.<sup>144</sup>

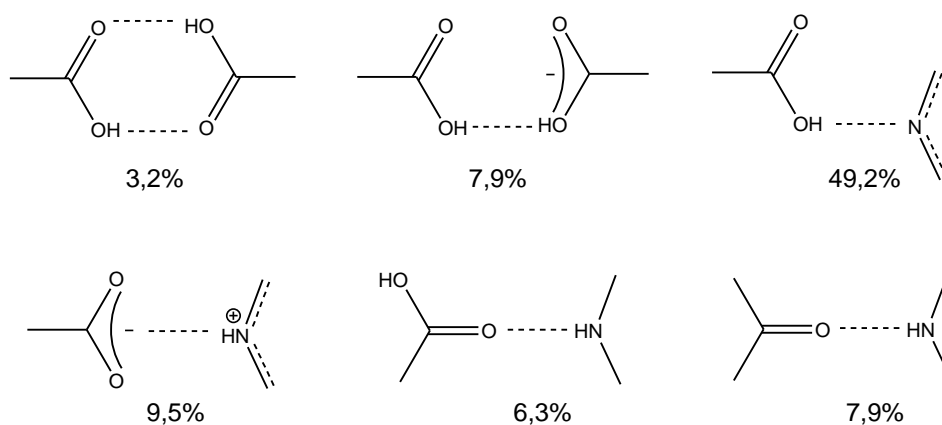
Apesar do ácido nalidíxico ser utilizado há mais de 50 anos, apenas foram reportadas até à data uma estrutura cristalina, dois sais com sódio e 1,2-etanodiona<sup>145</sup> e, mais recentemente, duas formas polimórficas em ácido metanosulfónico e mistura metanol-

nitrometano, e seis co-cristais com resorcinol, catecol, hidroquinona, pirogalol, orcinol e floroglucinol.<sup>146</sup>

O ácido nalidíxico possui uma interação intramolecular estabelecida entre o grupo carboxílico e cetona, formando um anel estável de seis membros. O seu empacotamento consiste em várias moléculas (geradas por simetria) dipostas de forma ordenada sem que exista quaisquer interações entre elas.

Relativamente aos co-cristais as interações são do tipo O-H...O, mantendo-se a forte interação intramolecular existente entre o grupo carboxílico e a cetona do ácido nalidíxico.

Uma pesquisa na CSD<sup>26</sup> em que se consideram compostos orgânicos com grupos cetona, ácido carboxílico e amina piridínica (presentes na estrutura química do ácido nalidíxico) e todos os grupos funcionais presentes nos co-cristalizantes testados, revela a existência de 63 compostos. O sintão que se forma com maior probabilidade é o O-H...N (entre o azoto piridínico e o grupo carboxílico), existindo 31 estruturas. Na Figura 4.2 encontram-se representados os sintões mais prováveis de ocorrer entre os grupos funcionais considerados.



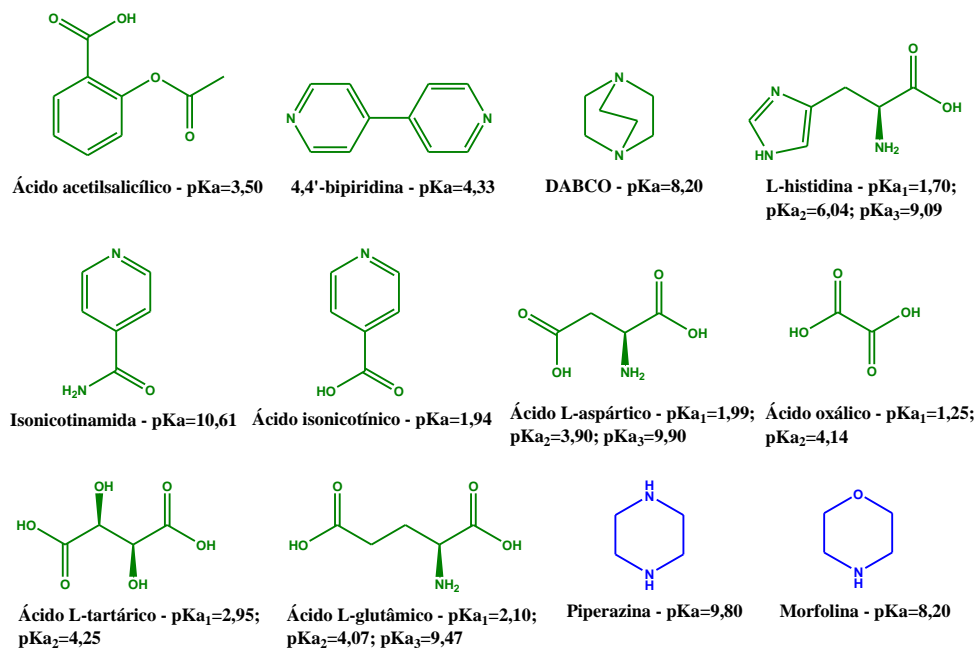
**Figura 4.2** Representação dos sintões mais comuns de se formarem para o ácido nalidíxico.

Os objetivos deste trabalho centralizam-se no estudo mais aprofundado da reatividade supramolecular deste PFA e na tentativa de melhorar a sua solubilidade através da síntese de novas formas cristalinas (co-cristais, sais moleculares, solvatos), utilizando diferentes grupos funcionais como ácidos carboxílicos aromáticos e alifáticos, aminas primárias, secundárias e terciárias, amidas primárias e secundárias, ésteres e éteres.

## 4.2 Parte Experimental

### 4.2.1 Síntese

Todos os reagentes e solventes foram adquiridos à Sigma-Aldrich e utilizados no processo de síntese sem qualquer purificação adicional. Na Figura 4.3 encontra-se apresentada uma lista com todos os co-cristalizantes (sendo um deles um PFA também, o ácido acetilsalicílico) testados com o ácido nalidíxico.



**Figura 4.3** Lista de compostos utilizados para a síntese de novas formas cristalinas com o ácido nalidíxico. A verde – co-cristalizantes que não reagiram; a azul – co-cristalizantes que reagiram.

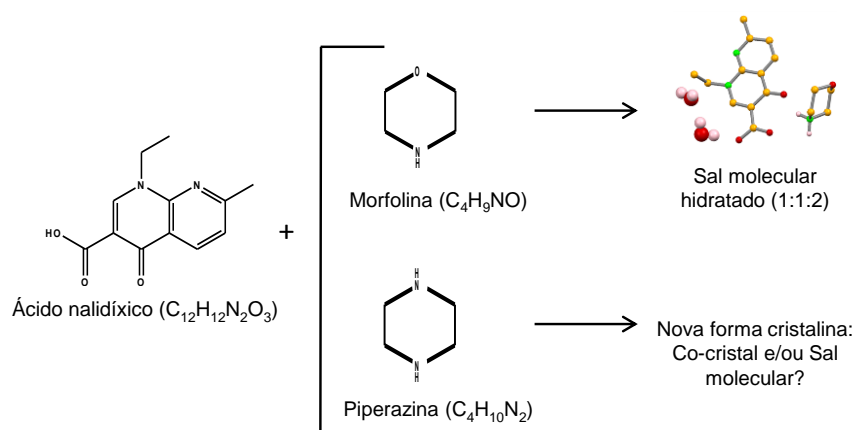
Numa primeira fase, procedeu-se ao estudo da reatividade do ácido nalidíxico com os diferentes grupos funcionais presentes nos diversos co-cristalizantes, através do método de co-cristalização em solução. Para os co-cristalizantes mais promissores, utilizou-se a técnica de moagem assistida por solvente, no moinho de bolas e no almofariz. Na Tabela 4.1 encontram-se apresentadas as condições experimentais empregues nas sínteses que não ocorreram com sucesso.

**Tabela 4.1** Condições experimentais aplicadas nos processos sintéticos que não ocorreram com sucesso.

Co-cristalizante	Solvente	V (mL)	Quantidade e concentração de co-cristalizante (mg (mmol))	Quantidade e concentração de Ácido nalidíxico (mg (mmol))	Tempo de agitação (min)
Ácido acetilsalicílico	Clorofórmio+etanol	4+4	52,2 (0,2897)	67,7 (0,2915)	10
4,4'-bipiridina	Clorofórmio+etanol	4+1,5	48,2 (0,3086)	71,8 (0,3092)	10
DABCO	Clorofórmio+etanol	4+2	39,1 (0,3455)	80,9 (0,3484)	10
L-histidina	Clorofórmio+etanol+água	4+3,5+2	48,4 (0,3120)	72,5 (0,3122)	10
Isonicotinamida	Clorofórmio+etanol	4+2	41,5 (0,3398)	78,7 (0,3389)	10
Ácido isonicotínico	Clorofórmio+etanol	5+6	41,7 (0,3133)	78,2 (0,3367)	10
Ácido L-aspártico	Clorofórmio+etanol	4+2,5	43,7 (0,3283)	76,3 (0,3285)	10
Ácido oxálico	Clorofórmio+água	4+2	33,6 (0,3732)	86,3 (0,3716)	10
Ácido L-tartárico	Clorofórmio+etanol	4+2	37,2 (0,2479)	82,6 (0,3557)	10
Acido L-glutâmico	Clorofórmio+água	4+3	40,3 (0,2739)	79,9 (0,3440)	10

Para os co-cristalizantes que reagiram com o ácido nalidíxico serão apresentadas, em detalhe, as condições experimentais utilizadas.

Na Figura 4.4 encontram-se representados os produtos obtidos, bem como as respetivas estequiometrias, da reação supramolecular do ácido nalidíxico com a morfolina e piperazina.



**Figura 4.4** Representação do produto final obtido e respetiva estequiometria da reação do ácido nalidíxico com o co-cristalizante morfolina.

### **Síntese do sal molecular hidratado nalidíxico:morfolina**

Solução clorofórmio: Foram dissolvidos, em 4 mL de clorofórmio, 87,3 mg (0,3759 mmol) de ácido nalidíxico. Adicionou-se, posteriormente, 32,5 µL (0,3757 mmol) de morfolina e deixou-se a solução a agitar durante 10 min à temperatura ambiente (aproximadamente 22°C). Após homogeneização da solução, selou-se o recipiente com *parafilm* que continha algumas pequenas aberturas para promover uma evaporação lenta. A formação de cristais incolores, sob a forma de placas (sal molecular hidratado) e agulhas (ácido nalidíxico), foi detetada após três dias. O produto foi analisado por DRXP e DRXMC.

Moagem assistida por solvente: Procedeu-se à moagem de 218,1 mg (0,9391 mmol) de ácido nalidíxico com 81,2 µL (0,3521 mmol) de morfolina. O processo foi efetuado com recurso a um moinho de bolas e a morfolina foi adicionada faseadamente (30 + 30 + 21,2 µL) durante 45 min (15 + 15 + 15 min) a 29,8 Hz até se observar reação completa. A amostra obtida foi analisada por DRXP. A estabilidade térmica foi avaliada por CDV-ATG.

Reristalização do produto obtido por moagem: Uma vez que o produto obtido pelo método de solução resultou numa mistura de reagentes com uma nova forma cristalina (sal molecular hidratado), procedeu-se à recristalização da amostra obtida por moagem assistida por solvente, em 3 mL de etanol, de modo a obter mais cristais. Após três dias foi possível observar a formação de cristais em forma de placas que foram analisadas por DRXP e DRXMC.

### **Síntese de uma nova forma cristalina do ácido nalidíxico com a piperazina**

Solução: Foram dissolvidos 87,8 mg (0,3780 mmol) de ácido nalidíxico e 32,5 mg (0,2369 mmol) de piperazina numa mistura de 4 mL de clorofórmio, 2 mL de etanol e 1 mL de água (4:2:1). A solução permaneceu sob agitação durante 10 min à temperatura ambiente (aproximadamente 23°C) até dissolução completa. Posteriormente selou-se o recipiente com *parafilm*, deixando a solução a cristalizar por evaporação lenta do solvente. A formação de cristais incolores, sob a forma de agulhas, foi detetada após três dias e analisadas por DRXP e DRXMC.

Recristalização do produto obtido por solução - etanol: Uma vez que os cristais obtidos a partir do método de co-cristalização em solução não difratavam, procedeu-se à sua recristalização em 3 mL de etanol. Após três dias foi visível a formação de cristais sob a forma de agulha que foram analisados por DRXP e DRXMC.

Moagem assistida por solvente: Procedeu-se à moagem de 218,9 mg (0,9426 mmol) de ácido nalidíxico e 81,1 mg de piperazina (0,5914 mmol), na presença de 20 µL de etanol

durante 15 min e com recurso a um moinho de bolas a agitar com uma frequência de 29,8 Hz. O produto obtido foi analisado por DRXP, verificando-se uma mistura física dos reagentes.

Recristalização do produto obtido por moagem: Dado que o produto obtido pelo método de moagem assistida por solvente se revelou distinto do que foi obtido pelo método de co-cristalização em solução, procedeu-se à sua recristalização em 3 mL de etanol, de modo a obter cristais para determinar a estrutura. Após três dias observou-se a formação de uma mistura de formas cristalinas (agulhas e placas), tendo-se verificado por DRXP e DRXMC ser uma mistura física dos dois componentes (desintegração do produto obtido).

#### **4.2.2 Detalhes de caracterização**

Todos os produtos obtidos foram analisados por DRXP e DRXMC sempre que possível. A estabilidade térmica foi avaliada por CDV-ATG. O IV foi utilizado como técnica de caracterização complementar.

Os dados de difração de raios-X de monocristal foram sempre recolhidos num difratómetro Bruker APEX II a 150 K. O gerador de raios-X operou a 50 kV e 30 mA e a recolha de dados foi monitorizada pelo programa APEX2. Os dados foram corrigidos para os efeitos de Lorentz, de polarização e de absorção, com recurso aos programas SAINT e SADABS.

Os dados de difração de pós foram recolhidos num difratómetro D8 Advance Bruker AXS  $\theta$ -2 $\theta$ , com radiação em cobre (Cu K $\alpha$ ,  $\lambda$ =1.5406 Å) e um monocromador secundário, operado a 40 Kv e 40 mA.

Os espectros de IV foram obtidos num espectrómetro Nexus-Thermo Nicolet (64 scans e resolução de 4 cm<sup>-1</sup>) numa gama de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>. As amostras foram diluídas em KBr (1:100 em peso).

As medidas de ATG e CDV foram realizadas numa termobalança SETARAM TG-DTA 92 sob fluxo e com uma velocidade de aquecimento de 10°C.min<sup>-1</sup>. Os pesos das amostras estavam compreendidos entre os 5 e os 10 mg.

#### **Difração de raios-X em mono cristal (DRXMC)**

Todos os átomos, com exceção dos hidrogénios, foram refinados anisotropicamente.

Todos os átomos de hidrogénio foram introduzidos em posições calculadas e refinados no átomo respetivo, com exceção dos átomos de hidrogénio da morfina que foram localizados a partir dos respetivos mapas de densidades eletrónicas. O programa MERCURY 3.0 foi utilizado para desenhar os diagramas de empacotamento e o programa PLATON, para retirar informação respeitante às interações intermoleculares entre as duas espécies.

Os dados recolhidos, bem como os detalhes de refinamento da estrutura cristalina, encontram-se listados na Tabela 4.2.

**Tabela 4.2** Detalhes cristalográficos para o composto sal molecular nalidíxico:morfolina.

Sal molecular hidratado Nalidíxico:morfolina	
Fórmula química	C <sub>12</sub> H <sub>11</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ·C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> NO <sub>2</sub> ·2(H <sub>2</sub> O)
M <sub>r</sub>	355,39
Temperatura/K	150
Comprimento de onda (Å)	0,71073
Morfologia, cor	Placas, sem cor
Tamanho do cristal/mm	0,20 X 0,03 X 0,02
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P 2 <sub>1</sub> /n
a/Å	11,470
b/Å	6,850
c/Å	21,730
α/°	90,00
β/°	94,110
γ/°	90,00
V/Å <sup>3</sup>	1702,9
Z	4
Densidade/mg·cm <sup>-3</sup>	1,386
Coeficiente de absorção/mm <sup>-1</sup>	0,106
θ min (°)	1,90
θ max (°)	27,80
Reflexões recolhidas/únicas	16336/3982
R <sub>int</sub>	0,0420
GoF	1,0210
Limite do desvio padrão das intensidades	>2σ(I)
R <sub>1</sub> (observado)	0,0388
w R <sub>2</sub> (total)	0,0969

#### **Estudos de solubilidade em solução aquosa**

Procedeu-se ao estudo preliminar de solubilidade através da dissolução de 10 mg, do sal molecular hidratado, em água que foi adicionada de forma gradual até dissolução completa. A adição gradual de água permitiu determinar valores empíricos de solubilidade.

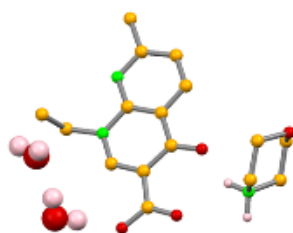
### **4.3 Apresentação e discussão de resultados**

Nesta seção serão apresentados e discutidos os resultados experimentais obtidos por DRXMC, DRXP, IV e CDV-DTA para a nova forma cristalina sintetizada (nalidíxico:morfolina). Os detalhes sobre as distâncias de ligação e ângulos obtidos a partir da DRXMC serão apresentados na Tabela 4.3 (fim da seção da caracterização estrutural).

O resultado do estudo preliminar de solubilidade, em solução, encontra-se também reportado.

#### 4.3.1 Caracterização estrutural do sal molecular hidratado nalidíxico:morfolina

Procedendo à reação do ácido nalidíxico com a morfolina, obtém-se um sal molecular hidratado, uma vez que ocorre transferência de prótons do grupo carboxílico do ácido nalidíxico para o grupo amina da morfolina. A localização dos prótons na morfolina e a distância C-O (1,251 e 1,262 Å) justificam esta observação. Este sal molecular cristaliza no grupo espacial monoclinico  $P2_1/n$ , sendo a unidade assimétrica constituída por um anião nalidíxico, um catião morfolina e duas moléculas de água (Figura 4.5).

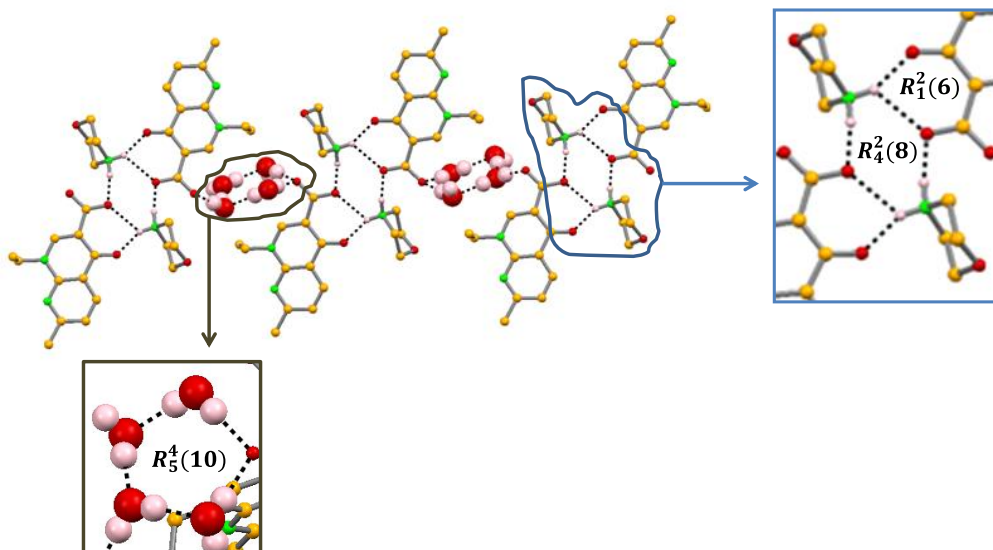


**Figura 4.5** Composição da unidade assimétrica: uma molécula de ácido nalidíxico desprotonada, uma molécula de morfolina protonada e duas moléculas de água.

O empacotamento da estrutura cristalina (Figura 4.6) é baseado em vários tipos de interação:  $N-H_{NH_2} \cdots O_{COO^-}$  (1,800(19) e 2,310(17) Å), em que um dos átomos de hidrogénio da amina secundária de duas moléculas de morfolina protonadas (em que uma resulta da inversão da outra) atua como duplo doador (numa interação bifurcada) para os oxigénios do grupo cetona e do grupo carboxilato (formando o sintão  $R_1^2(6)$ ). O outro átomo de hidrogénio atua como doador simples para o oxigénio do grupo carboxilato de outra molécula de ácido nalidíxico obtida por simetria (inversão);  $O-H_{H_2O} \cdots O_{COO^-}$  (1,93(2) e 1,92(2) Å), em que o oxigénio do grupo carboxilato atua como duplo aceitador de dois átomos de hidrogénio provenientes de duas moléculas de água geradas por simetria (em que uma resulta da rotação seguida de translação da outra – planos de escorregamento); e  $O-H_{H_2O} \cdots O_{H_2O}$  (1,97(2) e 1,95(2) Å) em que as quatro moléculas de água, geradas por simetria, interatuam entre si por pontes de hidrogénio.

A existência dos diferentes elementos de simetria, como eixos de inversão (em cada ião molecular) e rotações seguidas de translação (nas moléculas de água), juntamente com todas as interações supramoleculares existentes, permitem que sejam formados os sintões  $R_5^4(10)$  e  $R_4^2(8)$ , como se pode observar de forma realçada na Figura 4.6.





**Figura 4.6** Empacotamento cristalino do sal molecular hidratado nalidíxico:morfolina, segundo *b*, com destaque para as interações existentes que permitem a formação dos sintões  $R_5^4(10)$ ,  $R_1^2(6)$  e  $R_4^2(8)$ .

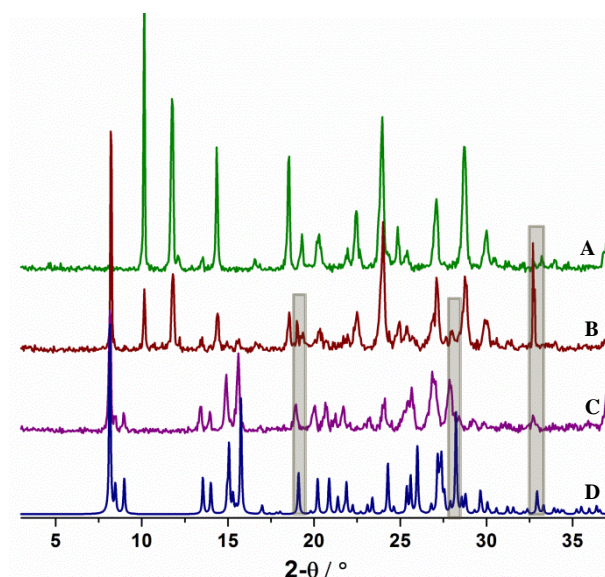
Considerando a pesquisa na CSD,<sup>26</sup> anteriormente descrita, a formação da interação  $\text{NH}_2^+ \cdots \text{O}$  ocorre com 0% de probabilidade, sendo mais expectável a formação do sintão  $\text{NH} \cdots \text{O}$  (sem transferência de hidrogénio).

A formação desta nova forma cristalina constitui uma excepção à regra do pKa ( $\Delta\text{pKa} > 2,7$ ), uma vez que a diferença entre os valores da morfolina e ácido nalidíxico é de 2,3. Uma possível justificação para o sucesso desta reação poderá residir no facto da morfolina existir sob a forma de líquido, comportando-se como reagente e solvente ao mesmo tempo e facilitando, deste modo, a reação.

**Tabela 4.3** Distâncias das ligações de hidrogénio e ângulos para o sal molecular hidratado nalidíxico:morfolina.

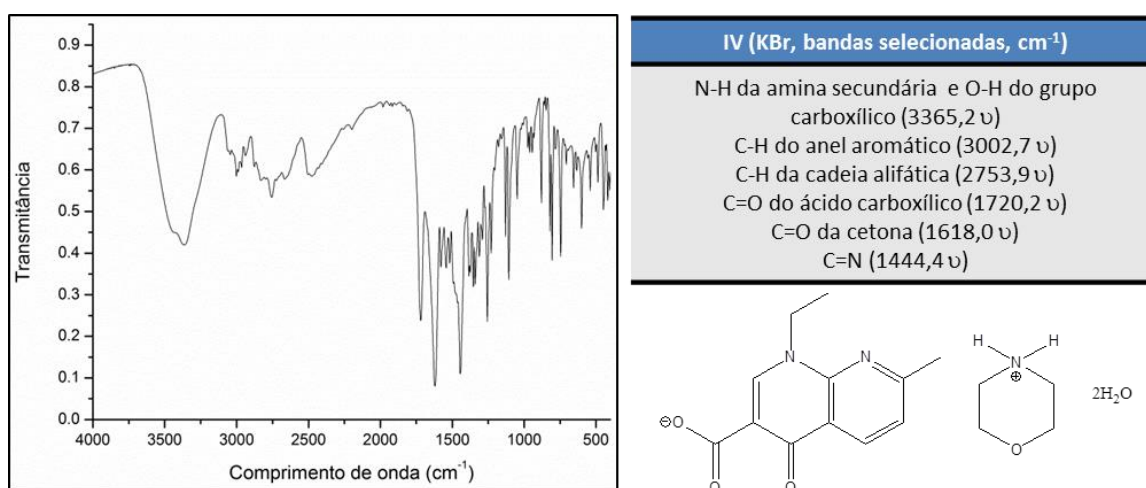
Estrutura	Operação de simetria	D-H $\cdots$ A	$d(\text{D-H})$ (Å)	$d(\text{H}\cdots\text{A})$ (Å)	$d(\text{D}\cdots\text{A})$ (Å)	DHA (°)
<b>Ácido nalidíxico:morfolina</b>	x, y, z	$\text{N}_{\text{NH}_2} \cdots \text{O}_{\text{COO}^-}$	0,918(17)	2,310(17)	2,9066(14)	122,3(14)
	x, y, z	$\text{N}_{\text{NH}_2} \cdots \text{O}_{\text{CO}}$	0,918(17)	1,859(17)	2,7140(16)	153,9(16)
	3/2-x, 1/2+y, 1/2-z	$\text{O}_{\text{H}_2\text{O}} \cdots \text{O}_{\text{H}_2\text{O}}$	0,82(2)	1,97(2)	2,7942(19)	176(2)
	2-x, -y, 1-z	$\text{N}_{\text{NH}_2} \cdots \text{O}_{\text{COO}^-}$	0,969(19)	1,800(19)	2,7581(16)	169,3(17)
	x, 1+y, z	$\text{O}_{\text{H}_2\text{O}} \cdots \text{O}_{\text{COO}^-}$	0,89(2)	1,93(2)	2,8117(16)	174(2)
	x, y, z	$\text{O}_{\text{H}_2\text{O}} \cdots \text{O}_{\text{H}_2\text{O}}$	0,86(2)	1,95(2)	2,7920(18)	167(2)
	x, y, z	$\text{O}_{\text{H}_2\text{O}} \cdots \text{O}_{\text{COO}^-}$	0,88(3)	1,92(3)	2,7926(16)	173(3)

Através da análise dos difratogramas apresentados na Figura 4.7, observa-se que a amostra proveniente da co-cristalização em solução não se encontra totalmente pura, dado que existe mistura do sal molecular hidratado com ácido nalidíxico que não reagiu completamente. Contudo, para o método de moagem assistida por solvente no moinho de bolas, verifica-se que a reação ocorreu de forma completa, pois existe total correspondência entre os difratogramas obtidos experimentalmente e teoricamente.



**Figura 4.7** Difratomogramas experimentais de DRXP para: **A** - ácido nalidíxico; sal molecular hidratado nalidíxico:morfolina obtidos a partir de **B** – solução; **C** - moagem assistida por solvente num moinho de bolas; sobrepostos com **D** - difratograma teoricamente obtido.

Através do espectro de IV apresentado na Figura 4.8 não é possível confirmar que a estrutura obtida é um sal molecular hidratado, uma vez que não se consegue identificar as bandas características da água, do grupo carboxilato e da amina secundária protonada. Apenas se identificam as bandas típicas dos grupos envolvidos nas formas puras do ácido nalidíxico e morfolina.

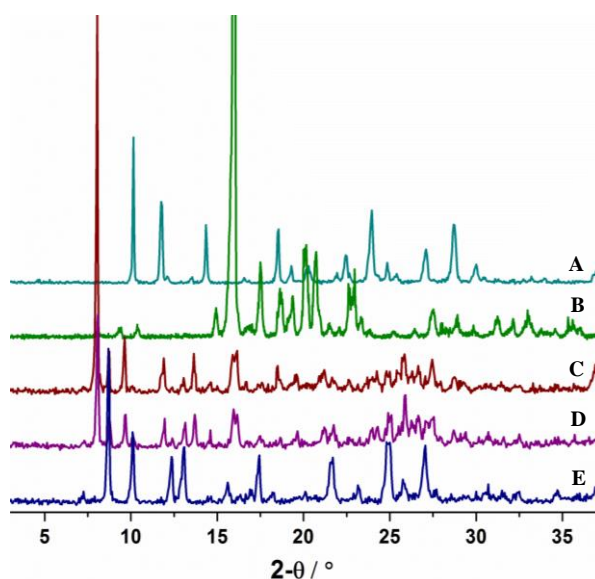


**Figura 4.8** Espectro de IV do sal molecular hidratado nalidíxico:morfolina, com a respetiva atribuição das bandas típicas dos grupos funcionais presentes em cada molécula.

#### 4.3.1.1 **Ácido nalidíxico:piperazina – co-cristal e/ou sal molecular?**

Apesar das várias tentativas de recristalização no sentido de determinar a estrutura cristalina da nova forma sintetizada, não foi possível obter cristais para análise por DRXMC.

Recorrendo ao processo de moagem assistida por solvente (no moinho de bolas), observou-se a existência de uma nova forma cristalina distinta da que foi obtida por solução (Figura 4.9). Procedeu-se à sua recristalização em etanol da qual se obteve apenas mistura física dos dois componentes. Analogamente ao que foi verificado para a amostra obtida por solução, também não foi possível obter a estrutura cristalográfica desta forma cristalina.



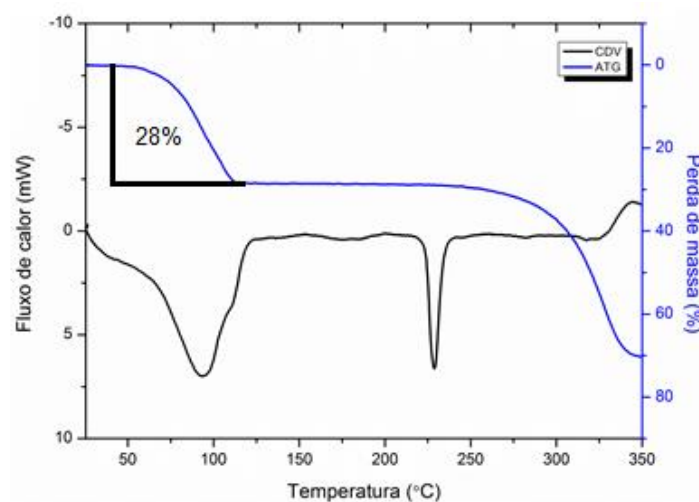
**Figura 4.9** Difratogramas experimentais de DRXP para: **A** - ácido nalidíxico; **B** – piperazina; **C** – solução; **D** - recristalização e **E** - moagem assistida por solvente num moinho de bolas.

Pela regra do pKa seria de esperar que o produto resultante desta reação fosse um sal molecular, uma vez que o pKa da piperazina é 9,8 e do ácido nalidíxico é 5,9 ( $\Delta pK_a=3,9$ ). Contudo esta regra, em alguns casos, não é respeitada obtendo-se uma forma cristalina diferente da que seria de esperar. Deste modo, é necessário proceder-se à otimização das condições experimentais aplicadas para a síntese destas formas (alterando os solventes de cristalização e promovendo uma evaporação mais lenta do solvente através da diminuição da área de evaporação) de forma a possibilitar a caracterização estrutural e térmica, por difração de raios-X e técnicas de CDV-ATG e termomicroscopia.

#### 4.3.2 **Caraterização térmica do sal molecular hidratado nalidíxico:morfolina por CDV-ATG**

Através da análise de CDV-ATG presente na Figura 4.10 verifica-se que a nova forma cristalina sintetizada (sal molecular hidratado) apresenta um ponto de fusão de 228,3°C que se encontra dentro do intervalo de fusão do ácido nalidíxico (225-231°C). Adicionalmente, é

observada uma transição de fase que começa aos 42,1°C, acompanhada por uma perda total de massa de 28%. Sabe-se que 11% dessa perda corresponde à saída das duas moléculas de água da estrutura cristalina (justificada também pela temperatura 93,4°C, próxima do ponto de ebulição da água). Os restantes 17% dizem respeito à perda de água proveniente da humidade atmosférica.



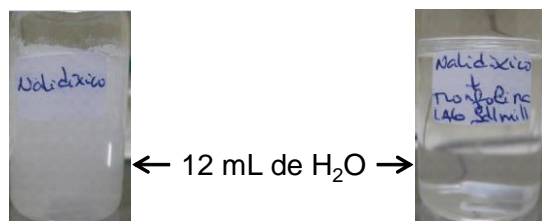
**Figura 4.10** CDV e ATG do sal molecular dihidratado nalidíxico:morfolina em que se observa o ponto de fusão a 228,3 °C.

O posicionamento das moléculas de água no empacotamento cristalino (Figura 4.6) e as distâncias de ligação  $O-H_{H_2O} \cdots OH_{H_2O}$  (Tabela 4.3) facilitam a perda de água. Teoricamente os hidratos não-estequiométricos não apresentam interações substancialmente firmes e ocupam posições desimpedidas em termos de interações, criando espaços no empacotamento cristalino. Nesta estrutura ocorre algo semelhante.

#### **4.3.3 Estudo preliminar de solubilidade do sal molecular hidratado nalidíxico:morfolina**

De modo a avaliar o comportamento da nova forma cristalina sintetizada, procedeu-se ao estudo preliminar da solubilidade em solução aquosa.

Como se pode verificar pela Figura 4.11, o sal molecular hidratado demonstra possuir uma melhor solubilidade em água (0,83 g/L) do que o ácido nalidíxico (inferior a 0,1 g/L).<sup>142</sup>



**Figura 4.11** Visualização da solubilidade do ácido nalidíxico e respetivo sal molecular hidratado em 12 mL de água.

Esta melhoria na solubilidade poderá dever-se ao facto de se tratar de um sal molecular, sendo mais polar e por conseguinte apresentando uma melhor dissolução em meio aquoso e também pelo facto de apresentar água na estrutura cristalina.



## **Conclusões e Perspetivas futuras**





A possibilidade da utilização de novas formas sólidas cristalinas na indústria farmacêutica apresenta-se como uma vantagem, dada não só a possibilidade de otimização das propriedades físico-químicas dos PFAs, mas também na proteção dos direitos de propriedade intelectual.

As novas formas cristalinas de ácido azelaico revelam uma melhoria geral da solubilidade e estabilidade térmica do PFA, em especial o sal molecular ácido azelaico:piperazina onde o aumento de solubilidade é de uma ordem de grandeza. O co-cristal ácido azelaico:4,4'-bipiridina apresenta uma solubilidade semelhante à observada para o PFA, mas estudos preliminares de estabilidade permitem concluir que possui uma estabilidade térmica superior. Relativamente aos sais moleculares anidros com morfolina e DABCO, o sal molecular com a morfolina apresenta uma melhor solubilidade em água. Tendo em consideração a aplicação farmacológica deste princípio ativo e as suas limitações em termos de solubilidade em solução aquosa, a síntese de novas formas cristalinas que compreendam co-cristalizantes geralmente reconhecidos como seguros que possam ter comportamentos idênticos à piperazina e à 4,4'-bipiridina neste tipo de síntese, poderá revelar-se de grande utilidade para modificar a estabilidade e solubilidade do PFA, tornando-se numa alternativa bastante viável para a resolução do problema de solubilidade de forma a permitir uma aplicação dermatológica mais eficiente.

A dapsona apresenta uma baixa solubilidade em meio aquoso. Com os novos co-cristais sintetizados (dapsona:4,4'-bipiridina e dapsona  $\epsilon$ -caprolactama) não se conseguiu ainda resolver o problema da solubilidade. Considerando estes resultados e a reduzida reatividade deste PFA, é necessário proceder a novos estudos utilizando outros co-cristalizantes com diferentes grupos funcionais que permitam obter novas formas multicomponentes.

A nova forma sintetizada com o ácido nalidíxico (sal molecular dihidratado com a morfolina) apresenta uma solubilidade ligeiramente superior à do PFA, e apresenta em termos de estabilidade térmica, uma transição de fase caracterizada pela perda das duas moléculas de água presentes na forma cristalina (11%) e moléculas de água provenientes da humidade (17%), perfazendo um total de 28%. Relativamente à reatividade, a existência de uma ligação intramolecular e de um átomo de azoto mais impedido estereoquimicamente dificulta a formação de interações supramoleculares com outras moléculas. A alternativa encontrada neste estudo para que este PFA possa reagir reside na quebra da interação intramolecular, através da formação de um sal molecular ou na utilização de co-cristalizantes que apresentem grupos doadores capazes de partilhar uma ligação de hidrogénio com os oxigénios dos grupos carboxílico e cetona. Considerando os resultados apresentados e os problemas de reatividade e baixa absorvidade deste PFA, resultante da sua baixa solubilidade, é necessário proceder-se a novos ensaios utilizando co-cristalizantes com um poder de basicidade superior de modo a testar a solubilidade e estabilidade térmica de sais deste PFA, para posterior aplicação farmacológica.

De salientar que a determinação da solubilidade foi realizada de modo preliminar e pretende-se, como trabalho futuro, determiná-la quantitativamente recorrendo a técnicas de HPLC e GC-MS.

Pretende-se ainda futuramente terminar os estudos de caracterização das formas cristalinas da dapsona e ácido nalidíxico, determinar quantitativamente a solubilidade destas formas cristalinas, e sintetizar novas formas cristalinas com outros PFAs que apresentem limitações sob o ponto de vista de solubilidade e biodisponibilidade de modo a dar resposta às necessidades impostas pela indústria farmacêutica. Com as formas mais promissoras serão realizados ensaios com vários excipientes para perspetivar uma nova formulação plausível.

## **Referências bibliográficas**



- (1) Desiraju, G. R., Crystal engineering: A brief overview. *Journal of Chemical Sciences* **2010**, 122, (5), 667-675.
- (2) Almarsson, O.; Zaworotko, M. J., Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases. Do pharmaceutical co-crystals represent a new path to improved medicines? *Chemical Communications* **2004**, (17), 1889-1896.
- (3) André, V. Design of new active pharmaceutical ingredients (APIs) using cocrystallization and polymorphic screening. Tese de Doutorado, IST. **2011**.
- (4) Blagden, N.; de Matas, M.; Gavan, P. T.; York, P., Crystal engineering of active pharmaceutical ingredients to improve solubility and dissolution rates. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2007**, 59, (7), 617-630.
- (5) Nangia, A., Supramolecular chemistry and crystal engineering. *Journal of Chemical Sciences* **2010**, 122, (3), 295-310.
- (6) Trask, A. V.; Jones, W., Crystal engineering of organic cocrystals by the solid-state grinding approach. *Organic Solid State Reactions* **2005**, 254, 41-70.
- (7) Desiraju, G. R., Crystal engineering. From molecules to materials. In ed.; Journal of molecular structure: **2003**; pp 5-15.
- (8) Rebek, J., Jr., Introduction to the Molecular Recognition and Self-Assembly Special Feature. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2009**, 106, (26), 10423-10424.
- (9) Braga, D. a. G., Fabrizia, *Making Crystals by Design*. ed.; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim: Deutsche Bibliothek, **2007**.
- (10) Desiraju, G. R., Hydrogen bridges in crystal engineering: Interactions without borders. *Accounts of Chemical Research* **2002**, 35, (7), 565-573.
- (11) Steiner, T., The hydrogen bond in the solid state. *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **2002**, 41, (1), 49-76.
- (12) Desiraju, G. R., Reflections on the Hydrogen Bond in Crystal Engineering. *Crystal Growth & Design* **2011**, 11, (4), 896-898.
- (13) Aakeroy, C. B.; Seddon, K. R., The hydrogen-Bond and Crystal Engineering. *Chemical Society Reviews* **1993**, 22, (6), 397-407.
- (14) Aakeroy, C. B.; Beatty, A. M.; Helfrich, B. A., "Total synthesis" supramolecular style: Design and hydrogen-bond-directed assembly of ternary supermolecules. *Angewandte Chemie-International Edition* **2001**, 40, (17), 3240-+.
- (15) Steed, J. W.; Atwood, J. L., *Supramolecular chemistry*. ed.; John Wiley and Sons: **2009**.
- (16) Dias, J. R.; Milne, G. W. A., Chemical Applications of Graph-Theory. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences* **1992**, 32, (1), 1-1.
- (17) Balaban, A. T., Applications of Graph-Theory in Cehmistry. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences* **1985**, 25, (3), 334-343.
- (18) Etter, M. C., Encoding and Decoding Hydrogen-Bond Patterns of Organic-Compounds. *Accounts of Chemical Research* **1990**, 23, (4), 120-126.
- (19) Grabowski, S. J., *Hydrogen Bonding - New Insights*. ed.; **2006**.
- (20) Etter, M. C.; Macdonald, J. C.; Bernstein, J., Graph-Set Analysis of Hydrogen-Bond Patterns in Organic-Crystals. *Acta Crystallographica Section B-Structural Science* **1990**, 46, 256-262.
- (21) Braga, D.; Brammer, L.; Champness, N. R., New trends in crystal engineering. *Crystengcomm* **2005**, 7, 1-19.
- (22) Aakeroy, C. B.; Desper, J.; Helfrich, B. A., Heteromeric intermolecular interactions as synthetic tools for the formation of binary co-crystals. *Crystengcomm* **2004**, 6, 19-24.
- (23) Weber, E., *Design of Organic Solids*. ed.; **1998**.
- (24) Goud, B. S.; Reddy, P. K.; Panneerselvam, K.; Desiraju, G. R., 1/1 Molecular-Complex of 2,3,4,5,6-Pentafluoro-Trans-Cinnamic Acid and 4-(N,N-Dimethylamino)-Trans-Cinnamic Acid. *Acta Crystallographica Section C-Crystal Structure Communications* **1995**, 51, 683-685.
- (25) Andre, V.; Fernandes, A.; Santos, P. P.; Duarte, M. T., On the Track of New Multicomponent Gabapentin Crystal Forms: Synthron Competition and pH Stability. *Crystal Growth & Design* **2011**, 11, (6), 2325-2334.
- (26) Allen, F. H., The Cambridge Structural Database: a quarter of a million crystal structures and rising. *Acta Crystallographica Section B-Structural Science* **2002**, 58, 380-388.
- (27) Kratochvil, B., Solid forms of pharmaceutical molecules. In Prague Institute of Chemical Technology.
- (28) Hughes, J. P.; Rees, S.; Kalindjian, S. B.; Philpott, K. L., Principles of early drug discovery. *British Journal of Pharmacology* **2011**, 162, (6), 1239-1249.

- (29) Savjani, K. T.; Gajjar, A. K.; Savjani, J. K., Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques. In ed.; ISRN Pharmaceutics: **2012**; pp 1-10.
- (30) Hancock, B. C.; Parks, M., What is the true solubility advantage for amorphous pharmaceuticals? *Pharmaceutical Research* **2000**, 17, (4), 397-404.
- (31) Morissette, S. L.; Almarsson, O.; Peterson, M. L.; Remenar, J. F.; Read, M. J.; Lemmo, A. V.; Ellis, S.; Cima, M. J.; Gardner, C. R., High-throughput crystallization: polymorphs, salts, co-crystals and solvates of pharmaceutical solids. *Advanced drug delivery reviews* **2004**, 56, (3), 275-300.
- (32) Datta, S., Crystal structures of drugs: advances in determination, prediction and engineering. In ed.; Grant, D. J. W., Ed. Nature Reviews, Drug Discovery: **2004**; Vol. 3, pp 42-57.
- (33) J, B., *Polymorphism in Molecular Crystals*. ed.; Oxford University Press: **2002**; Vol. 14.
- (34) Bis, J. A.; Vishweshwar, P.; Middleton, R. A.; Zaworotko, M. J., Concomitant and conformational polymorphism, conformational isomorphism, and phase relationships in 4-cyanopyridine center dot 4,4'-biphenol cocrystals. *Crystal Growth & Design* **2006**, 6, (4), 1048-1053.
- (35) Purohit R, V. P., Polymorphism: An Overview. In ed.; Resonance: **2009**; pp 882-893.
- (36) Bilton, C.; Howard, J. A. K.; Madhavi, N. N. L.; Nangia, A.; Desiraju, G. R.; Allen, F. H.; Wilson, C. C., When is a polymorph not a polymorph? Helical trimeric O-H center dot center dot center dot O synthons in trans-1,4-diethynylcyclohexane-1,4-diol. *Chemical Communications* **1999**, (17), 1675-1676.
- (37) Bauer, J.; Spanton, S.; Henry, R.; Quick, J.; Dziki, W.; Porter, W.; Morris, J., Ritonavir: An extraordinary example of conformational polymorphism. *Pharmaceutical Research* **2001**, 18, (6), 859-866.
- (38) Stahly, G. P., Diversity in single- and multiple-component crystals. The search for and prevalence of polymorphs and cocrystals. *Crystal Growth & Design* **2007**, 7, (6), 1007-1026.
- (39) Vishweshwar, P.; McMahon, J. A.; Oliveira, M.; Peterson, M. L.; Zaworotko, M. J., The predictably elusive form II of aspirin. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, 127, (48), 16802-16803.
- (40) Admiraal, G.; Eikelenboom, J. C.; Vos, A., Structures of the Triclinic and Monoclinic Modifications of (2-oxo-1-pyrrolidinyl)acetamide. *Acta Crystallographica Section B-Structural Science* **1982**, 38, (OCT), 2600-2605.
- (41) Fabbiani, F. P. A.; Allan, D. R.; Parsons, S.; Pulham, C. R., An exploration of the polymorphism of piracetam using high pressure. *Crystengcomm* **2005**, 7, 179-186.
- (42) Braga, D.; Grepioni, F.; Maini, L., The growing world of crystal forms. *Chemical Communications* **2010**, 46, (34), 6232-6242.
- (43) Brittain, H. G., Polymorphism and solvatomorphism 2006. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2008**, 97, (9), 3611-3636.
- (44) Sheth Ar. R., G. D. J. W., Relationship between the Structure and Properties of Pharmaceutical Crystals. In ed.; **2005**; Vol. 23, pp 36-48.
- (45) Lu, J., Crystallization and transformation of pharmaceutical solid forms. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* **2012**, 6, (9), 581-591.
- (46) Rolf, H., *Polymorphism in the Pharmaceutical Industry*. ed.; Wiley-VCH: **2006**.
- (47) Stahl P H, W. C. G., *Handbook of Pharmaceutical Salts - Properties, Selection, and Use*. ed.; Wiley - VCH: **2002**.
- (48) Desiraju, G. R., Pharmaceutical Salts and Co-crystals: Retrospect and Prospects. In Discovery, R. D., Ed. Royal Society of Chemistry: **2012**.
- (49) Stephenson, G. A.; Aburub, A.; Woods, T. A., Physical Stability of Salts of Weak Bases in the Solid-State. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2011**, 100, (5), 1607-1617.
- (50) Swarbrick, J., Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. In 3 ed.; Swarbrick, J., Ed. Informa Healthcare: **2007**; Vol. 1.
- (51) Elder, D. P.; Holm, R.; Diego, H. L., Use of pharmaceutical salts and cocrystals to address the issue of poor solubility. *Internation Journal of Pharmaceutics* **2012**.
- (52) Bhogala, B. R.; Basavoju, S.; Nangia, A., Tape and layer structures in cocrystals of some di- and tricarboxylic acids with 4,4'-bipyridines and isonicotinamide. From binary to ternary cocrystals. *Crystengcomm* **2005**, 7, 551-562.
- (53) Schultheiss, N.; Newman, A., Pharmaceutical Cocrystals and Their Physicochemical Properties. *Crystal Growth & Design* **2009**, 9, (6), 2950-2967.
- (54) Aakeroy, C. B.; Salmon, D. J., Building co-crystals with molecular sense and supramolecular sensibility. *Crystengcomm* **2005**, 7, 439-448.
- (55) Delori, A.; Friscic, T.; Jones, W., The role of mechanochemistry and supramolecular design in the development of pharmaceutical materials. *Crystengcomm* **2012**, 14, (7), 2350-2362.
- (56) Cains, P. W., Classical Methods of Preparation of Polymorphs and Alternative Solid Forms. In.

- (57) Steed, J. W., The role of co-crystals in pharmaceutical design. *Trends in Pharmacological Sciences* **2013**, 34, (3), 185-193.
- (58) Huang, L. F.; Tong, W. Q., Impact of solid state properties on developability assessment of drug candidates. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2004**, 56, (3), 321-334.
- (59) Remenar, J. F.; Morissette, S. L.; Peterson, M. L.; Moulton, B.; MacPhee, J. M.; Guzman, H. R.; Almarsson, O., Crystal engineering of novel cocrystals of a triazole drug with 1,4-dicarboxylic acids. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, 125, (28), 8456-8457.
- (60) Childs, S. L.; Chyall, L. J.; Dunlap, J. T.; Smolenskaya, V. N.; Stahly, B. C.; Stahly, G. P., Crystal engineering approach to forming cocrystals of amine hydrochlorides with organic acids. Molecular complexes of fluoxetine hydrochloride with benzoic, succinic, and fumaric acids. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, 126, (41), 13335-13342.
- (61) McNamara, D. P.; Childs, S. L.; Giordano, J.; Iarriccio, A.; Cassidy, J.; Shet, M. S.; Mannion, R.; O'Donnell, E.; Park, A., Use of a glutaric acid cocrystal to improve oral bioavailability of a low solubility API. *Pharmaceutical Research* **2006**, 23, (8), 1888-1897.
- (62) Variankaval, N.; Wenslow, R.; Murry, J.; Hartman, R.; Helmy, R.; Kwong, E.; Clas, S. D.; Dalton, C.; Santos, I., Preparation and solid-state characterization of nonstoichiometric cocrystals of a phosphodiesterase-IV inhibitor annul L-tartaric acid. *Crystal Growth & Design* **2006**, 6, (3), 690-700.
- (63) Cheney, M. L.; Weyna, D. R.; Shan, N.; Hanna, M.; Wojtas, L.; Zaworotko, M. J., Coformer Selection in Pharmaceutical Cocrystal Development: a Case Study of a Meloxicam Aspirin Cocrystal That Exhibits Enhanced Solubility and Pharmacokinetics. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2011**, 100, (6), 2172-2181.
- (64) Chen, X. M.; Morris, K. R.; Griesser, U. J.; Byrn, S. R.; Stowell, J. G., Reactivity differences of indomethacin solid forms with ammonia gas. *Journal of the American Chemical Society* **2002**, 124, (50), 15012-15019.
- (65) Slavin, P. A.; Sheen, D. B.; Shepherd, E. E. A.; Sherwood, J. N.; Feeder, N.; Docherty, R.; Milojevic, S., Morphological evaluation of the gamma-polymorph of indomethacin. *Journal of Crystal Growth* **2002**, 237, 300-305.
- (66) Cox, P. J.; Manson, P. L., gamma-indomethacin at 120 K. *Acta Crystallographica Section E-Structure Reports Online* **2003**, 59, O986-O988.
- (67) Basavoju, S.; Bostrom, D.; Velaga, S. P., Indomethacin-saccharin cocrystal: Design, synthesis and preliminary pharmaceutical characterization. *Pharmaceutical Research* **2008**, 25, (3), 530-541.
- (68) Hickey, M. B.; Peterson, M. L.; Scoppettuolo, L. A.; Morissette, S. L.; Vetter, A.; Guzman, H.; Remenar, J. F.; Zhang, Z.; Tawa, M. D.; Haley, S.; Zaworotko, M. J.; Almarsson, O., Performance comparison of a co-crystal of carbamazepine with marketed product. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2007**, 67, (1), 112-119.
- (69) Himes, V. L.; Mighell, A. D.; Decamp, W. H., Structure of Carbamazepine - 5H-Dibenzazepine-5-Carboxamide. *Acta Crystallographica Section B-Structural Science* **1981**, 37, 2242-2245.
- (70) Grzesiak, A. L.; Lang, M. D.; Kim, K.; Matzger, A. J., Comparison of the four anhydrous polymorphs of carbamazepine and the crystal structure of form I. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2003**, 92, (11), 2260-2271.
- (71) Lang, M. D.; Kampf, J. W.; Matzger, A. J., Form IV of carbamazepine. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2002**, 91, (4), 1186-1190.
- (72) Reck, G.; Dietz, G., The Order-Disorder Structure of Carbamazepine Dihydrate - 5H-Dibenzazepine-5-Carboxamide Dihydrate, C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O. *Crystal Research and Technology* **1986**, 21, (11), 1463-1468.
- (73) Johnston, A.; Florence, A. J.; Kennedy, A. R., Carbamazepine furfural hemisolvate. *Acta Crystallographica Section E-Structure Reports Online* **2005**, 61, O1777-O1779.
- (74) Johnston, A.; Florence, A. J.; Kennedy, A. R., Carbamazepine N,N-dimethylformamide solvate. *Acta Crystallographica Section E-Structure Reports Online* **2005**, 61, O1509-O1511.
- (75) Lohani, S.; Zhang, Y. G.; Chyall, L. J.; Mougin-Andres, P.; Muller, F. X.; Grant, D. J. W., Carbamazepine-2,2,2-trifluoroethanol (1/1). *Acta Crystallographica Section E-Structure Reports Online* **2005**, 61, O1310-O1312.
- (76) Fleischman, S. G.; Kuduva, S. S.; McMahon, J. A.; Moulton, B.; Walsh, R. D. B.; Rodriguez-Hornedo, N.; Zaworotko, M. J., Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases: Multiple-component crystalline solids involving carbamazepine. *Crystal Growth & Design* **2003**, 3, (6), 909-919.
- (77) Childs, S. L.; Wood, P. A.; Rodriguez-Hornedo, N.; Reddy, L. S.; Hardcastle, K. I., Analysis of 50 Crystal Structures Containing Carbamazepine Using the Materials Module of Mercury CSD. *Crystal Growth & Design* **2009**, 9, (4), 1869-1888.

- (78) Johnston, A.; Johnston, B. F.; Kennedy, A. R.; Florence, A. J., Targeted crystallisation of novel carbamazepine solvates based on a retrospective Random Forest classification. *Crystengcomm* **2008**, 10, (1), 23-25.
- (79) Ter Horst, J. H.; Cains, P. W., Co-crystal polymorphs from a solvent-mediated transformation. *Crystal Growth & Design* **2008**, 8, (7), 2537-2542.
- (80) McMahon, J. A.; Bis, J. A.; Vishweshwar, P.; Shattock, T. R.; McLaughlin, O. L.; Zaworotko, M. J., Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases. 3. Primary amide supramolecular heterosynthons and their role in the design of pharmaceutical co-crystals. *Zeitschrift Fur Kristallographie* **2005**, 220, (4), 340-350.
- (81) Childs, S. L.; Rodriguez-Hornedo, N.; Reddy, L. S.; Jayasankar, A.; Maheshwari, C.; McCausland, L.; Shipplett, R.; Stahly, B. C., Screening strategies based on solubility and solution composition generate pharmaceutically acceptable cocrystals of carbamazepine. *Crystengcomm* **2008**, 10, (7), 856-864.
- (82) Reck, G.; Thiel, W., Ammonium salts. *Pharmazie* **1991**, 46, 509.
- (83) Vishweshwar, P.; McMahon, J. A.; Bis, J. A.; Zaworotko, M. J., Pharmaceutical co-crystal. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2006**, 95, (3), 499-516.
- (84) Zegarac, M.; Mestrovic, E.; Dumbovic, A.; Devcic, M.; Tudja, P. Pharmaceutically Acceptable Co-crystalline Forms of Sildenafil. **2007**.
- (85) Florence, A. T. a. A., D, *Physicochemical Principles of Pharmacy*. 5<sup>th</sup> edition ed.; Royal Pharmaceutical Society: 2011.
- (86) Friscic, T.; Jones, W., Recent Advances in Understanding the Mechanism of Cocrystal Formation via Grinding. *Crystal Growth & Design* **2009**, 9, (3), 1621-1637.
- (87) Clegg, W., *Crystal Structure Determination*. ed.; Oxford University Press: United States, **1998**.
- (88) C.Giaqvazzo; H.L.Monaco; Viterbo, D.; F. Scordari; G. Gilli; G. Zanotti; Catti, M., Fundamentals of crystallography. In ed.; Oxford University Press: 1992.
- (89) George, H. S.; Lyle, H. J., *X-ray structure determination, pratical guide*. 2 ed.; Wiley-intersciense publication: **1989**.
- (90) Moore, M., White-beam X-ray topography. *Crystallography Reviews* **2012**, 18, (3), 205-233.
- (91) John, S. K.; Kathleen, L., International Tables for X-ray Crystallography. In ed.; The international Union of Crystallography by The Kynoch Pres: **1969**; Vol. 2.
- (92) Rhodes, G., *Crystallography Made Crystal Clear*. ed.; Elsevier: **2006**; Vol. 3.
- (93) [http://www.asdlib.org/onlineArticles/ecourseware/Bullen\\_XRD/XRDModule\\_Theory\\_Instrument%20Design\\_3.htm](http://www.asdlib.org/onlineArticles/ecourseware/Bullen_XRD/XRDModule_Theory_Instrument%20Design_3.htm). (15 de Maio),
- (94) Pecharsky, V. K.; Zavalij, P. Y., *Fundamentals of Powder Diffraction and Structural Characterization of Materials*. ed.; Kluwer Academic Publishers: **2003**.
- (95) guide, T. S. Q., Powder X-ray Diffraction (XRD). In ed.; **2011**.
- (96) Gad, S. C., *Preclinical Development Handbook - ADME and Biopharmaceutical Properties*. ed.; John Wiley and Sons: **2008**.
- (97) Braga, D.; Grepioni, F.; Maini, L.; Polito, M., Crystal Polymorphism and Multiple Crystal Forms. *Molecular Networks* **2009**, 132, 25-50.
- (98) Wouters Johan, Q. L., *Pharmaceutical Salts and Co-crystals*. ed.; RSC Publishing.
- (99) Ando, S.; Kikuchi, J.; Fujimura, Y.; Ida, Y.; Higashi, K.; Moribe, K.; Yamamoto, K., Physicochemical characterization and structural evaluation of a specific 2:1 cocrystal of naproxen-nicotinamide. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2012**, 101, (9), 3214-3221.
- (100) Chierotti, M. R.; Gobetto, R., Solid-state NMR studies of weak interactions in supramolecular systems. *Chemical Communications* **2008**, (14), 1621-1634.
- (101) Vogt, F. G.; Clawson, J. S.; Strohmeier, M.; Edwards, A. J.; Pham, T. N.; Watson, S. A., Solid-State NMR Analysis of Organic Cocrystals and Complexes. *Crystal Growth & Design* **2009**, 9, (2), 921-937.
- (102) Mafra, L.; Santos, S. M.; Siegel, R.; Alves, I.; Almeida Paz, F. A.; Dudenko, D.; Spiess, H. W., Packing Interactions in Hydrated and Anhydrous Forms of the Antibiotic Ciprofloxacin: a Solid-State NMR, X-ray Diffraction, and Computer Simulation Study. *Journal of the American Chemical Society* **2012**, 134, (1), 71-74.
- (103) Park, J. S.; Kang, H. W.; Park, S. J.; Kim, C. K., Use of CP/MAS solid-state NMR for the characterization of solvate molecules within estradiol crystal forms. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2005**, 60, (3), 407-412.
- (104) Sardo, M.; Siegel, R.; Santos, S. M.; Rocha, J.; Gomes, J. R. B.; Mafra, L., Combining Multinuclear High-Resolution Solid-State MAS NMR and Computational Methods for Resonance Assignment of Glutathione Tripeptide. *Journal of Physical Chemistry A* **2012**, 116, (25), 6711-6719.
- (105) Hebert, R., Therapeutically improved salts of azelaic acid. In ed.; United States Patent, **2004**.



- (106) Liu, R. H.; Smith, M. K.; Basta, S. A.; Farmer, E. R., Azelaic acid in the treatment of papulopustular rosacea - A systematic review of randomized controlled trials. *Archives of Dermatology* **2006**, 142, (8), 1047-1052.
- (107) Franke, P.; Gunther, C.; Riedl, J. Composition with azelaic acid. **2003**.
- (108) Mather, K.; Stahl, C. R. Topical vehicles containing solubilized and stabilized azelaic acid. **1997**.
- (109) Housty, P. J.; Hospital, M., Structure des Deux Formes Cristallines de l'Acide Azélaïque. *Acta Cryst* **1966**, 22, 289.
- (110) Bond, A. D.; Edwards, M. R.; Jones, W., Azelaic acid. *Acta Cryst* **2001**, E57, o143.
- (111) Thompson, L. J.; Voguri, R. S.; Male, L.; Tremayne, M., The crystal structures and melting point properties of isonicotinamide cocrystals with alkanediacids HO<sub>2</sub>C(CH<sub>2</sub>)(n-2)CO<sub>2</sub>H n=7-9. *Crystengcomm* **2011**, 13, (12), 4188-4195.
- (112) Karki, S.; Friscic, T.; Jones, W., Control and interconversion of cocrystal stoichiometry in grinding: stepwise mechanism for the formation of a hydrogen-bonded cocrystal. *Crystengcomm* **2009**, 11, (3), 470-481.
- (113) Aakeroy, C. B.; Panikkattu, S. V.; DeHaven, B.; Desper, J., Establishing Supramolecular Control over Solid-State Architectures: A Simple Mix and Match Strategy. *Crystal Growth & Design* **2012**, 12, (5), 2579-2587.
- (114) Aakeroy, C. B.; Hussain, I.; Desper, J., 2-Acetaminopyridine: A highly effective cocrystallizing agent. *Crystal Growth & Design* **2006**, 6, (2), 474-480.
- (115) Lawniczak, P.; Pogorzelec-Glaser, K.; Pawlaczyk, C.; Pietraszko, A.; Szczesniak, L., New 2-methylimidazole-dicarboxylic acid molecular crystals: crystal structure and proton conductivity. *Journal of Physics-Condensed Matter* **2009**, 21, (34).
- (116) Edwards, M. R.; Jones, W.; Motherwell, W. D. S., Influence of dicarboxylic acid structure on tape networks in co-crystals of 2-pyridone. *Crystal Engineering* **2002**, 5, (1), 25-36.
- (117) Braga, D.; Maini, L.; de Sanctis, G.; Rubini, K.; Grepioni, F.; Chierotti, M. R.; Gobetto, R., Mechanochemical preparation of hydrogen-bonded adducts between the diamine 1,4-diazabicyclo 2.2.2 octane and dicarboxylic acids of variable chain length: An x-ray diffraction and solid-state NMR study. *Chemistry-a European Journal* **2003**, 9, (22), 5538-5548.
- (118) Braga, D.; Dichiarante, E.; Palladino, G.; Grepioni, F.; Chierotti, M. R.; Gobetto, R.; Pellegrino, L., Remarkable reversal of melting point alternation by co-crystallization. *Crystengcomm* **2010**, 12, (11), 3534-3536.
- (119) Silverstein, R. M.; Webster, F. X.; Kiemle, D. J., *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 7<sup>a</sup> ed.; John Wiley and Sons: **2005**.
- (120) Breitmaier, E. V. W., *Carbon-13 NMR Spectroscopy: High Resolution Methods and Applications in Organic Chemistry and Biochemistry*. 3<sup>a</sup> ed.; VCH: New York, **1980**.
- (121) R, C. S.; N, S., Probing acid-amide intermolecular hydrogen bonding by NMR spectroscopy and DFT calculation. *J. Mol. struct* **2012**, 1016, 163.
- (122) Braga, D.; Palladino, G.; Polito, M.; Rubini, K.; Grepioni, F.; Chierotti, M. R.; Gobetto, R., Three Polymorphic Forms of the Co-Crystal 4,4'-Bipyridine/Pimelic Acid and their Structural, Thermal, and Spectroscopic Characterization. *Chemistry-a European Journal* **2008**, 14, (32), 10149-10159.
- (123) Castañeda, L. C. R.; Martínez, M. A.; Kawachi, J. N.; Jinich, J. K. Use of dapsone as a neuroprotector in cerebral infarction. **2012**.
- (124) Zhu, Y. I.; Stiller, M. J., Dapsone and sulfones in dermatology: Overview and update. *Journal of the American Academy of Dermatology* **2001**, 45, (3), 420-434.
- (125) McGeer, P. L.; Harada, N.; Kimura, H.; McGeer, E. G.; Schulzer, M. Dapsone and promin for the treatment of dementia. **1996**.
- (126) Lathrop, R. W.; Osborne, D. W. Emulsive composition containing dapsone. **2013**.
- (127) Salama, N. N.; El Ries, M. A.; Toubar, S.; Abd El Hamid, M.; Walash, A. I., Thermoanalytical Investigation of Some Sulfone-Containing Drugs. *Journal of Analytical Methods in Chemistry* **2012**.
- (128) Eccles, K. S.; Elcoate, C. J.; Stokes, S. P.; Maguire, A. R.; Lawrence, S. E., Sulfoxides: Potent Co-Crystal Formers. *Crystal Growth & Design* **2010**, 10, (10), 4243-4245.
- (129) Rafilovich, M.; Bernstein, J.; Hickey, M. B.; Tauber, M., Benzidine: A co-crystallization agent for proton acceptors. *Crystal Growth & Design* **2007**, 7, (9), 1777-1782.
- (130) Kumar, V. S. S.; Nangia, A.; Katz, A. K.; Carrell, H. L., Molecular complexes of some mono- and dicarboxylic acids with trans-1,4-dithiane-1,4-dioxide. *Crystal Growth & Design* **2002**, 2, (4), 313-318.
- (131) Davies, C.; Langler, R. F.; Sharma, C. V. K.; Zaworotko, M. J., A supramolecular carpet formed via self-assembly of bis(4,4'-dihydroxyphenyl) sulfone. *Chemical Communications* **1997**, (6), 567-568.
- (132) Bel'skkii, V. K.; Chernikova, N. Y.; Rotaru, V. K.; Kruchinin, M. M., *Kristallogr. Rep* **1983**, 28, 690.

- (133) Yathirajan H S; Nagaraja, P.; Nagaraj, B.; Bhaskar, B. L.; Lynch, D. E., *Private Communication* **2004**.
- (134) Lemmer, H.; Stieger, N.; Liebenberg, W.; Caira, M. R., Solvatomorphism of the Antibacterial Dapsone: X-ray Structures and Thermal Desolvation Kinetics. *Crystal Growth & Design* **2012**, 12, (3), 1683-1692.
- (135) Smith, G.; Urs, D. W., 4-(4-aminophenylsulfonyl)anilina-1,3,5-trinitrobenzeno. *Acta Crystallographica Section E* **2012**, E68, o1130-o1132.
- (136) Smith, G.; Wermuth, U. D., 4-[(4-aminophenyl)sulfonyl]aniline-3,5-dinitrobenzoic acid. In ed.; 2012; Vol. E68, p o669.
- (137) Ibrahim, M. S.; Shehatta, I. S.; Sultan, M. R., Cathodic adsorptive stripping voltammetric determination of nalidixic acid in pharmaceuticals, human urine and serum. *Talanta* **2002**, 56, (3), 471-479.
- (138) Budai, M.; Szabo, Z.; Zimmer, A.; Szogyi, M.; Grof, P., Studies on molecular interactions between nalidixic acid and liposomes. *International Journal of Pharmaceutics* **2004**, 279, (1-2), 67-79.
- (139) Achari, A.; Neidle, S., Nalidixic Acid. *Acta Crystallographica Section B-Structural Science* **1976**, 32, 600-602.
- (140) Grover, G.; Kini, S. G., Synthesis and evaluation of new quinazalone derivatives of nalidixic acid as potential antibacterial and antifungal agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2006**, 41, (2), 256-262.
- (141) Gibbons, S.; Oluwatuyi, M.; Kaatz, G. W., A novel inhibitor of multidrug efflux pumps in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **2003**, 51, (1), 13-17.
- (142) Lorphensri, O.; Sabatini, D. A.; Kibbey, T. C. G.; Osathaphan, K.; Saiwan, C., Sorption and transport of acetaminophen, 17 alpha-ethynyl estradiol, nalidixic acid with low organic content aquifer sand. *Water Research* **2007**, 41, (10), 2180-2188.
- (143) Bharate, S. S.; Bharate, S. B.; Baja, A. N., Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review. In ed.; **2010**; Vol. 1.
- (144) Mallick, S.; Sahu, A.; Pal, K., Dissolution Behaviour of nalidixic acid dispersions using water soluble dispersion carriers. *Acta Poloniae Pharmaceutica* **2004**, 61, (1), 21.
- (145) Sinha, K. B.; Kumr, A.; Kumar, B., Synthesis, characterization and biological studies of nalidixic acid Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Fe<sup>2+</sup> and Cu<sup>2+</sup> metal complex. *Oriental Journal of Chemistry* **2009**, 25, (4), 1077.
- (146) Gangavaram, S.; Raghavender, S.; Sanphui, P.; Pal, S.; Manjunatha, S. G.; Nambiar, S.; Nangia, A., Polymorphs and Cocrystals of Nalidixic Acid. *Crystal Growth & Design* **2012**, 12, (10), 4963-4971.